

**Untersuchung
eines neuen, niedermolekularen
PVP-Jod-Komplexes
auf seine subakute Toxizität
sowie teratologischen
Nebenwirkungen am Kaninchen**

Bernd Siegemund

*Diss. München
1983*



Aus dem Institut für Pharmakologie, Toxikologie und Pharmazie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Komm. Vorstand: Prof. Dr. W. Leidl

und der CONFARMA GmbH Deutschland,
pharmakologisches und toxikologisches Institut
Institutsleitung: Apotheker W. Weyers

Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. K. Tempel

**Untersuchung eines neuen, niedermolekularen
PVP-Jod-Komplexes auf seine subakute Toxizität
sowie teratologischen Nebenwirkungen am Kaninchen**

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Bernd Siegemund
aus
St. Georgen

München 1983

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät

der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. K. Tempel

Korreferent: Prof. Dr. J. Meyer

Tag der Promotion: 24. Februar 1984

1894-1895

Meinen Eltern
und
meiner lieben Frau
in Dankbarkeit gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Material und Methoden	8
2.1. Reagentien und Tiermaterial	8
2.1.1. Reagentien	8
2.1.2. Tiermaterial	10
2.2. Methodik allgemein	11
2.2.1. Vorbehandlung der Tiere	11
2.2.2. Versuchshaltungsbedingungen	11
2.3. Methodik der subakuten Toxikologie	11
2.3.1. Versuchsdauer	12
2.3.2. Körpergewichtsentwicklung	12
2.3.3. Verlaufskontrolle von Futterverbrauch, Blut-, Urin- und Kotstatus sowie All- gemeinbefinden der Tiere	12
2.3.3.1. Futterverbrauch	12
2.3.3.2. Allgemeinbefinden der Tiere	12
2.3.3.3. Blutstatus	12
2.3.3.4. Urinstatus	13
2.3.3.5. Kotstatus	13
2.3.4. Applikation des zu prüfenden Präparates	13
2.3.4.1. Dermale Applikation	14
2.3.4.2. Intramuskuläre Applikation	14
2.3.4.3. Orale Applikation	14
2.3.5. Dosisgruppen	15
2.3.5.1. Dermale Applikation	15
2.3.5.2. Intramuskuläre Applikation	15
2.3.5.3. Orale Applikation	16
2.3.6. Hämatologische Untersuchungen	17

2.3.6.1.	Erythrozyten	17
2.3.6.2.	Leukozyten	18
2.3.6.3.	Hämoglobin	18
2.3.6.4.	Hämatokrit	18
2.3.6.5.	Retikulozyten	18
2.3.6.6.	Thrombozyten	18
2.3.6.7.	Differentialblutbild	18
2.3.6.8.	Quick-Wert-Bestimmung	19
2.3.6.9.	Blutungszeit	19
2.3.7.	Klinisch-chemische Untersuchungen	19
2.3.7.1.	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT-optimiert)	19
2.3.7.2.	Alkalische Phosphatase (AP-optimiert)	20
2.3.7.3.	Creatinin Kinase (CK NAC aktiviert)	20
2.3.7.4.	Harnstoff	20
2.3.7.5.	Bilirubin	20
2.3.7.6.	Natrium (Na^+), Kalium (K^+) und Calcium (Ca^{++})	20
2.3.7.7.	Thyroxin (T_4)	21
2.3.7.8.	Trijodthyronin (T_3)	21
2.3.7.9.	Thyroxin-Bindungskapazität (TBK)	21
2.3.7.10.	Freier Thyroxin-Index (FT_4I)	21
2.3.7.11.	Gesamt-Jod-Bestimmung	21
2.3.8.	Urinuntersuchungen	22
2.3.8.1.	pH-Wert	22
2.3.8.2.	Dichtebestimmung	22
2.3.8.3.	Chemische Parameter	22
2.3.8.4.	Mikroskopische Untersuchung	22
2.3.8.5.	Gesamt-Jod-Bestimmung	23
2.3.9.	Kotuntersuchung	23
2.3.9.1.	Gesamt-Jod-Bestimmung	23
2.3.10.	Sektion	23
2.3.11.	Histologie	24

	Seite
2.4.	Methodik der teratologischen Untersuchungen 24
2.4.1.	Körpergewichtsentwicklung 24
2.4.2.	Allgemeinbefinden der Tiere 25
2.4.3.	Verpaarung 25
2.4.4.	Applikation der Prüfsubstanz 25
2.4.5.	Dosisgruppen 25
2.4.6.	Gewinnung der Feten und Bestimmung der interessierenden Parameter 25
2.4.7.	Weiterführende Untersuchungen der Feten 26
2.4.7.1.	Tötung und Sektion der Feten 26
2.4.7.2.	Skelettfärbung nach Dawson 26
2.4.7.3.	Untersuchung nach Wilson 27
2.4.8.	Berechnung teratologisch wichtiger Parameter 27
2.4.8.1.	Resorptionsrate 27
2.4.8.2.	Postimplantationsverlust 28
2.4.8.3.	Präimplantationsverlust 28
2.4.8.4.	Mißbildungsrate 28
2.5.	Statistische Auswertung 28
3.	Anteilmäßige Aufteilung der Untersuchungen 29
4.	Ergebnisse 31
4.1.	Subakute Toxizität 31
4.1.1.	Dermale Applikation 31
4.1.1.1.	Futtermittelverbrauch 31
4.1.1.2.	Körpergewichtsentwicklung 31
4.1.1.3.	Ergebnisse der klinischen Untersuchung 31
4.1.1.4.	Mortalitätsrate 34
4.1.1.5.	Hämatologie 34

4.1.1.6.	Klinische Chemie des Blutes	34
4.1.1.7.	Ergebnisse der Harnuntersuchung	37
4.1.1.8.	Verlauf der Jodkonzentration in Blut, Urin und Kot	39
4.1.1.9.	Sektionsergebnisse	39
4.1.1.10.	Ergebnisse der pathologisch-histolo- gischen Untersuchung	42
4.1.2.	Intramuskuläre Applikation	42
4.1.2.1.	Futtermverbrauch	42
4.1.2.2.	Körpergewichtsentwicklung	45
4.1.2.3.	Ergebnisse der klinischen Untersuchung	45
4.1.2.4.	Mortalitätsrate	47
4.1.2.5.	Hämatologie	47
4.1.2.6.	Klinische Chemie des Blutes	49
4.1.2.7.	Ergebnisse der Harnuntersuchung	51
4.1.2.8.	Verlauf der Jodkonzentration in Blut, Urin und Kot	54
4.1.2.9.	Sektionsergebnisse	54
4.1.2.10.	Ergebnisse der pathologisch-histolo- gischen Untersuchung	56
4.1.3.	Orale Applikation	56
4.1.3.1.	Futtermverbrauch	56
4.1.3.2.	Körpergewichtsentwicklung	56
4.1.3.3.	Ergebnisse der klinischen Untersuchung	59
4.1.3.4.	Mortalitätsrate	59
4.1.3.5.	Hämatologie	59
4.1.3.6.	Klinische Chemie des Blutes	62
4.1.3.7.	Ergebnisse der Harnuntersuchung	64
4.1.3.8.	Verlauf der Jodkonzentration in Blut, Urin und Kot	64
4.1.3.9.	Sektionsergebnisse	67
4.1.3.10.	Ergebnisse der pathologisch-histolo- gischen Untersuchung	70

	Seite
4.2.	Teratologische Untersuchungen 70
4.2.1.	Befunde an den Muttertieren 70
4.2.1.1.	Körpergewichtsentwicklung der Mutter- tiere 70
4.2.1.2.	Ergebnisse der klinischen Untersuchung 70
4.2.1.3.	Pathologische Veränderungen an den Mut- tertieren 71
4.2.2.	Befunde an den Feten 71
4.2.2.1.	Lebensfähigkeit der Feten 71
4.2.2.2.	Gewicht der Feten und Plazenten 71
4.2.2.3.	Mißbildungen am Skelett 71
4.2.2.4.	Mißbildungen innerer Organe 72
4.2.2.5.	Prä- und Postimplantationsverluste sowie Mißbildungsrate 72
5.	Diskussion 74
5.1.	Allgemeines 74
5.2.	Eigene Untersuchungen 75
5.2.1.	Klinische Befunde der subakuten Toxi- zitäten 75
5.2.2.	Klinische Chemie und Hämatologie der subakuten Toxizitäten 77
5.2.3.	Sektionsbefunde und histologische Patho- logie 83
5.2.4.	Ergebnisse der teratologischen Unter- suchungen 85
5.3.	Schlußfolgerungen und Ausblick 85
6.	Zusammenfassung / Summery 88
7.	Literaturverzeichnis 92
8.	Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen 100
9.	Abkürzungsverzeichnis 103

1. EINLEITUNG UND PROBLEM -
STELLUNG

Nur 5 Jahre nachdem -1812- Jod als Element von dem Salpetersieder Bernard Courtois aus Dijon entdeckt worden war (TORAUDE, L.-G., 1921), wurde Kaliumjodid von Prout bei der Behandlung des Kropfes eingesetzt (HEMKEN, R.W., 1978). Erst als durch Semmelweis, Pasteur und Lister die Bedeutung einer antiseptischen Wundbehandlung bekannt wurde, setzte die Suche nach einfach anwendbaren Desinfektionsmitteln ein. 1873 wurde von Davaine (HOUANG, E.T. et al., 1976) Jod als bakterizid erkannt, jedoch aufgrund seiner schlechten Löslichkeit in Wasser (SIGGIA, S., 1957), seiner Instabilität und irritierenden Wirkung auf die Haut nur sehr begrenzt eingesetzt. Obwohl das Problem der Löslichkeit durch die Einführung von Jodtinktur und Lugolscher Lösung teilweise beseitigt werden konnte, blieben bedenkenswerte Nachteile bestehen. Anfang der 50er Jahre stellten Shelanski und Mitarbeiter (CANTOR, A., SHELANSKI, H.A., 1951) bei Untersuchungen über die entgiftend wirkenden Eigenschaften von Polyvinylpyrrolidon (PVP) fest, daß Jod von diesem gebunden wird.

Polyvinylpyrrolidon wurde bereits in den frühen 40er Jahren aufgrund seiner dem natürlichen Plasmaprotein recht ähnlichen Eigenschaften, wie hoher kolloidosmotischer Druck (SCHULZ, E., 1941; RAVIN, H.A. et al., 1952) und bestimmte Vehikelfunktionen (BENNHOLD, H., SCHUBERT, R., 1943), als Plasmaexpander vor allem in der Schocktherapie eingesetzt (HECHT, G., WEESE, H., 1943). Mit Polyvinylpyrrolidon hatte man für Jod einen Lösungsvermittler gefunden, mit dem die hervorragende

mikrobiozide Wirkung des Jods (GERSHENFELD, L., 1957; MONIF, G.R.G. et al., 1980; MAUSS, H.J., 1982) erhalten blieb, und die Verträglichkeit wesentlich verbessert werden konnte (DACRE, G.E., 1971).

Von Jod ist bekannt, daß es Unverträglichkeiten beziehungsweise allergische Reaktionen hervorrufen kann. Wie umfangreiche Untersuchungen zeigten (BOGASH, R.C., 1956; KNOLLE, P., SCHWARZMANN, G., 1980), traten derartige Nebenwirkungen bei Anwendung von PVP-Jod sehr selten auf.

Die gute Verträglichkeit von Jod in Form des PVP-Jods sowie die heute als Hospitalismus bekannte, ständig steigende Zahl von Antibiotika-Resistenzen haben zu einer Renaissance von früher oft angewandten unspezifischen Haut- und Wunddesinfizienzien geführt.

Jod ist im Vergleich zu Chlor und Brom das Halogen mit den stärksten antimikrobiellen Eigenschaften (GERSHENFELD, L., WITLIN, B., 1949). Die mikrobiozide Wirkung des Jods erklärt sich aus seiner oxydierenden Eigenschaft. Es reagiert unter anderem mit den oxydierbaren Aminosäuren Histidin und Tyrosin (CARROLL, B. et al., 1955), die in allen Proteinen enthalten sind. Folge ist ein Funktionsverlust, resultierend aus Veränderungen in der Tertiärstruktur der Eiweißmoleküle. Auf diesen Mechanismus ist auch das weite Wirkungsspektrum des Jods zurückzuführen.

PVP-Jod wirkt fungizid, bakterizid, viruzid, sporizid und trichomonazid (KNOLLE, P., 1975), es sind weder Resistenzen noch Resistenzentwicklungen bekannt (HOUANG, E.T. et al., 1976) und es besitzt eine geringe Sensibilisierungsrate (GÖRTZ, G., 1979).

Eine Übersicht, in der PVP-Jod einigen lokal angewendeten Antibiotika hinsichtlich Wirksamkeit und Nebenwirkungen gegenübergestellt ist, gibt Tabelle 1.

TABELLE I

	Chloramphenicol	Fusidinsäure	Gentamycinsulfat	Neomycinsulfat	Nitrofurazon	Spiramycin	Tetracyclin	Sulfonamid	PVP-Jod-Komplex
Staphylococcus aureus									
Streptokokken									
Escherichia coli									
Proteus sp.									
Pseudomonas aeruginosa									
Klebsiella									
Pilze									
Allergie	3-5%	selten	selten	15%	3-4%	selten	2-4%	6%	selten
Resistenzentwicklung	langsam	schnell	langsam	schnell	langsam	langsam	langsam	langsam	keine
Parallelresistenz	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Protein-Bindung	50%	90%	gering	45%	50%	gering	20-75%	bis 90%	gering

Hohe Empfindlichkeit

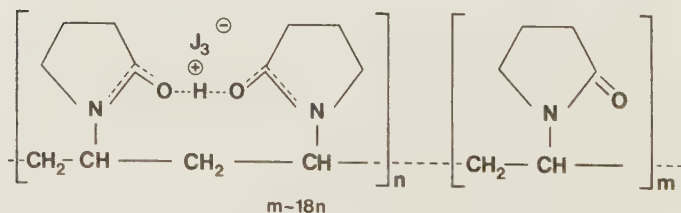
geringe Empfindlichkeit

Wirkungen und Nebenwirkungen lokaler Antibiotika und Chemotherapeutika im Vergleich mit PVP-Jod (n. GÖRTZ, G., 1977).

Daraus ergeben sich für PVP-Jod folgende Hauptanwendungsgebiete: Präoperative Hautdesinfektion, prophylaktische Wundbehandlung bei Riß-, Biß- und Schürfwunden, aber auch bei Verbrennungen, Verätzungen und Verbrühungen, Blasenspülungen bei Katheterträgern, Bauchhöhlenspülungen im Zusammenhang mit bakteriellen Peritonitiden, aber auch Infektionsprophylaxe bei verschiedenen Darmoperationen. Neben einer ganzen Reihe weiterer Anwendungsmöglichkeiten vor allem in der Gynäkologie, Urologie, Proktologie, Dermatologie, Hals-Nasen-Ohren- und Zahnheilkunde findet es auch in der Veterinärmedizin Verwendung. So werden Forelleneier mit PVP-Jod desinfiziert (MCFADDEN, T.W., 1969), und es wird bei der Actinomykose-Behandlung des Hundes angewandt (DAVENPORT, A.A. et al., 1974).

Die nach neueren Untersuchungen (SCHENCK, H.-U. et al., 1979) gültige, chemische Struktur des Polyvinylpyrrolidon-Jods zeigt Abbildung 1.

Abbildung 1



Poly(1-vinyl-2-pyrrolidon)-Jod-Komplex.

Wie aus Abbildung 1 ersichtlich, erfolgt die Bindung von elementarem Jod an Polyvinylpyrrolidon als J_3 -Anion über eine sehr kurze Wasserstoffbrückenbindung zwischen den

Carbonylgruppen zweier Pyrrolidonringe. Das J_3 -Anion ist dem Wasserstoff-Kation im Sinne einer Ionenbindung zugeordnet. Mit Hilfe von überschüssigen, nicht an der Komplexbildung beteiligten Pyrrolidonringen wird die Wasserlöslichkeit des Polymerkomplexes erreicht (SCHENCK, H.-U. et al., 1979). Jod ist in diesem Komplex nicht "frei" sondern "verfügbar", das heißt es wird aus dem Komplex protrahiert freigesetzt; dieser stellt somit ein Joddepot dar (GÖRTZ, G., HÄRING, R., 1981; MORIGUCHI, I. et al., 1969).

Je nach Kettenlänge schwankt das Molekulargewicht von Polyvinylpyrrolidon zwischen 10.000 und 700.000 Dalton (BASF, 1981). Wie schon aus den angeführten Anwendungsbeispielen hervorgeht, kann selbst bei strikt lokaler Applikation eine Resorption des PVP-Jods nicht ausgeschlossen werden. Auch wenn durch die intakte Haut oder Schleimhaut keine nennenswerte Resorption von Polyvinylpyrrolidon erfolgt (WESSEL, W. et al., 1971), so dürfte diese bei Applikation der Substanz an offenen Wunden oder Brandwunden sicherlich in gewissem Umfang gegeben sein. Dafür sprechen auch eine große Zahl entsprechender Fallstudien (ALVAREZ, E., 1979; ARONOFF, G.R. et al., 1980; LAVELLE, K.J. et al., 1974; PIETSCH, J., MEAKINS, J.L., 1976; VORHERR, H. et al., 1980). Um die mit einer möglichen Resorption von PVP-Jod verbundenen Komplikationen zu vermeiden, sollte zunächst gewährleistet sein, daß die Verbindung möglichst schnell und vollständig wieder aus dem Organismus entfernt wird. Wie die Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen (AMMON, R., DEPNER, E., 1957; GÄRTNER, K. et al., 1968; HUEPER, W.C., 1961; MAREK, H. et al., 1969) gezeigt haben, erfolgt die Ausscheidung über die Nieren, wobei speziesspezifische Unterschiede hinsichtlich der Geschwindigkeit diskutiert werden (KNOLLE, P., 1982; WESSEL,

W. et al., 1971). Erfolgt die Ausscheidung nicht schnell und umfangreich genug, so kann zum einen aus dem erhöhten Serumjodspiegel eine temporäre Hypothyreose, auch als Wolff-Chaikoff-Effekt (WOLFF, J., CHAIKOFF, J.L., 1948) bekannt, daraus resultieren. Zum anderen weiß man, daß es zu intrazellulären Einlagerungen von Polyvinylpyrrolidon vor allem in Zellen des retikuloendothelialen Systems kommen kann (BARGMANN, W., 1946; FRESEN, O., WEESE, H., 1952; MAREK, H. et al., 1969; RESKE-NIELSEN, E. et al., 1976). Neueren Untersuchungen zufolge (KNOLLE, P., 1982) kann es bei lokaler Applikation von PVP-Jod, infolge von Endozytosereaktionen, zur Ausbildung von Fremdkörpergranulomen kommen.

Aus diesen Gründen gehen die Bestrebungen heute dahin, ein Polyvinylpyrrolidon-Jod in möglichst niedermolekularer Form herzustellen und die heute gängigen PVP-Jod-Komplexe mit einem mittleren Molekulargewicht von 40.000 Dalton durch solche mit einem mittleren Molekulargewicht von 10.000 Dalton zu ersetzen.

Die vorliegenden Untersuchungen sind Teil der pharmakologisch-toxikologischen Prüfungen, denen ein neues Arzneimittel gemäß § 22 des Arzneimittelgesetzes für die Anmeldung beim Bundesgesundheitsamt unterzogen werden muß.

Bei der zu prüfenden Substanz handelt es sich um einen Polyvinylpyrrolidon-Jod-Komplex mit einem mittleren Molekulargewicht von 10.000 Dalton, wobei als PVP-Komplex Kollidon^R K 17 der BASF verwendet wurde.

Das Präparat wurde in zwei Verarbeitungsformen geprüft: einer wässrigen, 15 %igen PVP-Jod K 17 Lösung und einer 10 %igen PVP-Jod- K 17 Salbe. In beiden Fällen lagen 10 % des PVP-Jods als sogenanntes "verfügbares" Jod (GÖRTZ, G., HÄRING, R., 1981) vor.

Mit der wässrigen Lösung wurden eine 28 Tage dauernde subakute Toxizität bei oraler, und intramuskulärer Applikation sowie eine teratologische Untersuchung am Kaninchen durchgeführt.

Die Salbe wurde ebenfalls mit einer 28-tägigen subakuten Toxizität bei dermalen Applikation am Kaninchen geprüft.

2. M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

2.1. Reagentien und Tiermaterial

2.1.1. Reagentien

- 2.1.1.1. Äther zur Narkose; HÖCHST AG; 6000 Frankfurt/M.; Reg. Nr. 254.
- 2.1.1.2. Alizarinsulfonsäure-Natriumsalz (Alizarin S); E. MERCK; 6100 Darmstadt-1; Nr. 6279.
- 2.1.1.3. Brennspirit 70 %; KURFÜRSTEN-APOTHEKE; 8034 Germering;
- 2.1.1.4. Brilliantkresylblau-Lösung; E. MERCK; 6100 Darmstadt-1; Nr. 13742.
- 2.1.1.5. Calciumchlorid 0,01 mol/l; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 126411.
- 2.1.1.6. Citrat-Pufferlösung; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 126446.
- 2.1.1.7. Combur ⁸ Test ^(R), BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 1849588.
- 2.1.1.8. Enzymun-Test ^(R) TBK; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 249416.
- 2.1.1.9. Enzymun-Test ^(R) T₃; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 204528.
- 2.1.1.10. Enzymun-Test ^(R) T₄; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 204510.
- 2.1.1.11. Essigsäure (Eisessig) min. 96 % reinst; E. MERCK; 6100 Darmstadt-1; Nr. 58 E.
- 2.1.1.12. Ethanol abs. zur Analyse; E. MERCK; 6100 Darmstadt-1; Nr. 970.

- 2.1.1.13. Formaldehydlösung 37 %; E. MERCK; 6100 Darmstadt; Nr. 4002.
- 2.1.1.14. Giemsa Azur-Eosin-Methylenblau-Lösung; E. MERCK; 6100 Darmstadt-1; Nr. 9204.
- 2.1.1.15. Glycerin wasserfrei (Glycerol Pharmakopoe EUR III); A. HEDINGER GMBH & CO.; 7000 Stuttgart-60.
- 2.1.1.16. Hämoglobin-Test-Combination; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 124729.
- 2.1.1.17. Harnstoff-Test-Combination; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 124770.
- 2.1.1.18. Hepato-Quick; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 126535.
- 2.1.1.19. Isotonische Kochsalzlösung; DR. FRESENIUS KG; 6380 Bad Homburg.
- 2.1.1.20. Kaliumhydroxidplättchen reinst; E. MERCK; 6100 Darmstadt-1; Nr. 5032.
- 2.1.1.21. May-Grünwalds Eosin-Methylenblau-Lösung; E. MERCK; 6100 Darmstadt-1; Nr. 1424.
- 2.1.1.22. Merckotest[®] GOT (UV opt.); E. MERCK; 6100 Darmstadt-1; Nr. 14319.
- 2.1.1.23. Monotest[®] Alkalische Phosphatase (AP) opt., Test-Combination; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 123857.
- 2.1.1.24. Monotest[®] 10 Bilirubin, DPD Methode; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 123943.
- 2.1.1.25. Monotest[®] 10 CK NAC aktiviert; BOEHRINGER MANNHEIM GMBH; 6800 Mannheim-1; Nr. 126349.
- 2.1.1.26. Nembutal[®]; DEUTSCHE ABBOTT GMBH; 6507 Ingel-

heim; Nr. 8612.

- 2.1.1.27. Pikrinsäure, krist. reinst; E. MERCK; 6100 Darmstadt-1; Nr. 621.
- 2.1.1.28. PVP-Jod K 17 Lösung 15 %; BRAUN-MELSUNGEN AG; 3508 Melsungen.
- 2.1.1.29. PVP-Jod K 17 Salbe; BRAUN-MELSUNGEN AG; 3508 Melsungen.
- 2.1.1.30. PVP-Jod K 17 Salbengrundlage; BRAUN-MELSUNGEN AG; 3508 Melsungen.
- 2.1.1.31. Sulfadimethoxin 20 %; HYDRO-CHEMIE; 8000 München-50.
- 2.1.1.32. Thrombofix[®]; GÖDECKE AG; 7800 Freiburg; Nr. 971913.
- 2.1.1.33. Vetren[®]-Ampullen; PROMONTA GMBH; 2000 Hamburg-26.

2.1.2. Tiermaterial

Die teratologischen und subakut toxikologischen Untersuchungen wurden an insgesamt 176 NZW Kaninchen der Firma DR. IVANOVAS GMBH, 7964 Kisslegg, durchgeführt. Die Gesamt-tierzahl verteilte sich auf die einzelnen Versuchsteile wie folgt:

- Subakute Toxizität: Dermale Applikation: 40 Tiere
(20 ♀♀ und 20 ♂♂)
Intramuskuläre Applikation: 40 Tiere
(20 ♀♀ und 20 ♂♂)
Orale Applikation: 40 Tiere
(20 ♀♀ und 20 ♂♂)
- Teratologie: 56 ♀♀; zusätzlich standen 12 ♂♂ Tiere für den Deckakt zur Verfügung.

Das Alter der Tiere für die subakute Toxizität betrug 2,5 - 3 Monate, das der Tiere für die Teratologie 3,5 - 4 Monate.

2.2. Methodik allgemein

2.2.1. Vorbehandlung der Tiere

An allen Tieren wurde zur Kokzidiose-Prophylaxe zwei Wochen vor Versuchsbeginn eine zweimalige, intramuskuläre Applikation von 0,2 ml/kg KG Sulfadimethoxin 20 % (2.1.1.31.) im Abstand von 24 Stunden vorgenommen.

2.2.2. Versuchshaltungsbedingungen

Vor Versuchsbeginn wurden alle Tiere einer dreiwöchigen Eingewöhnung unterzogen. Sie wurden in Ganzdrahtkäfigen zu n = 1 gehalten. Die Käfige waren in einer Batterie mit Papierbandentmistung (EBECO GMBH, 4620 Castrop-Rauxel) montiert.

Die Raumtemperatur lag zwischen 20 - 23 °C, die relative Luftfeuchtigkeit betrug 65 -70 %. Der Luftwechsel in den klimatisierten Räumen erfolgte 10 x pro Stunde mit keimarmer Luft. Der Hell-Dunkel-Rhythmus war 12 : 12 Stunden.

Als Futter stand den Tieren eine Standard-Diät für Meerschweinchen*(ALTROMIN Nr. 3110, 4930 Lage) zur Verfügung. Als Trinkwasser wurde den Tieren teilenthärtetes Wasser (DH 4) aus der automatischen Tränkeanlage (EBECO GMBH, 4620 Castrop-Rauxel) ad libitum geboten.

2.3. Methodik der subakuten Toxikologie

*: entsprach, abgesehen vom Vitamin C-Gehalt, der Kaninchen-Standard-Diät

2.3.1. Versuchsdauer

Die Versuchsdauer betrug 28 Tage.

2.3.2. Körpergewichtsentwicklung

Die Wägung erfolgte bei allen Tieren wöchentlich einmal auf einer Federwaage C 517 (BIZERBA WERKE, 7460 Balingen).

2.3.3. Verlaufskontrolle von Futterverbrauch, Blut- Urin- und Kotstatus sowie Allgemeinbefinden der Tiere

2.3.3.1. Futterverbrauch

Die Futteraufnahme wurde wöchentlich einmal 24 Stunden nach Fütterung, durch Rückwaage des nicht aufgenommenen Futters mit einer Mettler-K 7 T-Waage (METTLER, 6300 Gießen) ermittelt.

2.3.3.2. Allgemeinbefinden der Tiere

Bei der täglich erfolgten Applikation des zu prüfenden Präparates wurden die einzelnen Tiere auf klinische Auffälligkeiten hin untersucht. Wurden solche festgestellt, so wurde dies in dem für jedes Tier separat geführten Protokoll vermerkt.

2.3.3.3. Blutstatus

Zur Feststellung des Blutstatus wurde von 50 % der Tiere (3 ♀♀ und 2 ♂♂ pro Dosisgruppe) zu den Zeitpunkten Null,

eine Woche und vier Wochen nach Versuchsbeginn, Blut aus der A. auricularis entnommen. Die Parameter Na^+ , T_3 , T_4 , Thyroxinbindungskapazität (TBK), Harnstoff, Bilirubin wurden im Serum bestimmt. Alkalische Phosphatase, Creatin-Phosphokinase, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, K^+ , Ca^{++} wurden im Plasma (2.1.1.33.) gemessen. Für die Hämatologie wurde heparinisiertes Blut (2.1.1.33.) verwendet. Mit Citrat-Blut (2.1.1.6.) wurden die Quick-Werte ermittelt. Gesamt-Jod wurde im Vollblut bestimmt.

2.3.3.4. Urinstatus

Bei 20 % der Tiere (1 ♀ und 1 ♂ pro Dosisgruppe) wurde zu den Zeitpunkten Null, eine Woche und vier Wochen nach Versuchsbeginn, der Urin über 24 Stunden hinweg in einer Aluminium-Schale aufgefangen und das Volumen ermittelt. Die Bestimmung der chemisch-physikalischen Parameter erfolgte sofort. Für die mikroskopische Untersuchung des Sediments sowie die Gesamt-Jod-Bestimmung wurde der Urin bei -20 °C gelagert.

2.3.3.5. Kotstatus

Bei den selben Tieren, bei denen der Urin untersucht wurde, wurde zu den gleichen Zeitpunkten der Kot über 24 Stunden hinweg mittels einem über der Aluminium-Schale befindlichen Gazegeflecht gesammelt und anschließend gewogen. Für die Gesamt-Jod-Bestimmung wurde ein Aliquot genommen und bei - 20 °C bis zur Messung gelagert.

2.3.4. Applikation des zu prüfenden Präparates

2.3.4.1. Dermale Applikation

Die Kaninchen wurden einmal wöchentlich auf einer Fläche von 10 x 15 cm im dorsalen Thorakal- und Lumbalbereich rasiert. Diese Hautfläche wurde anschließend mit Sandpapier skarifiziert. Auf die so behandelte Hautfläche wurde täglich mit einem Mundspatel das Prüfpräparat - in der für jedes einzelne Tier benötigten Menge - gleichmäßig verteilt und mit einem Okklusiv-Verband, bestehend aus 6 Tupfern (Purzellin[®], 4 x 5 cm, HARTMANN AG, 7920 Heidenheim), medizinischem Pflaster (Blenderm^R, 50 mm breit, MEDICAL PRODUCTS DIVISION 3 M, USA, St. Paul, MN 55101) und einer luftdurchlässigen Kompressionsbinde (Acrylastic[®], 8 cm breit, BEIERSDORF AG, 2000 Hamburg), versehen. Zur Sicherung wurde das Ende der Kompressionsbinde noch mit Leukoplast (BEIERSDORF AG, 2000 Hamburg) fixiert.

Der Verband wurde täglich erneuert und das Untersuchungsmuster täglich frisch appliziert.

2.3.4.2. Intramuskuläre Applikation

Den Tieren wurde täglich die Prüfsubstanz mittels Einmal-Kanülen (Sterikan[®] L 18, BRAUN-MELSUNGEN AG; 3580 Melsungen) und Einmal-Spritzen (Injekt[®] 5 ml und 10 ml; BRAUN-MELSUNGEN AG; 3580 Melsungen) in die Lendenmuskulatur injiziert.

2.3.4.3. Orale Applikation

Den Tieren wurde täglich das zu untersuchende Präparat mittels Magen-Schlund-Sonde intragastral appliziert. Um das Mittel vollständig aus der Sonde in den Magen zu

überführen, wurden einige Milliliter Luft nachgepresst. Dies sowie das Abmessen der zu applizierenden Substanzmenge erfolgte mittels einer 100 ml Janet-Spritze (BRAUN-MELSUNGEN AG; 3580 Melsungen).

2.3.5. Dosisgruppen

2.3.5.1. Dermale Applikation

Die Kontrollgruppe (K) erhielt 10 g Salbengrundlage/kg KG/d. Die niedere Dosisgruppe (ND) erhielt 1,0 g PVP-Jod K 17-Salbe/kg KG/d. Die Wahl dieser Dosis erfolgte, da mit 6 - 8 g der Salbe eine Haut-, Brandwunden- oder Operationsfläche von 20 x 20 cm gut bestrichen werden kann. Für einen 70 kg schweren Menschen hieße dies 0,1 g/kg KG. Bei einer 10-fachen Sicherheit kommt man auf die applizierte Menge von 1 g/kg KG.

Die mittlere Dosisgruppe (MD) erhielt 3,2 g PVP-Jod K 17-Salbe/kg KG/d. Die applizierte Menge stellt das geometrische Mittel aus hoher und niederer Dosis dar.

Die hohe Dosisgruppe (HD) bekam 10,0 g PVP-Jod K 17-Salbe/kg KG/d. Die Wahl dieser Menge ergab sich aus dem maximalen Fassungsvermögen des Okklusiv-Verbandes.

2.3.5.2. Intramuskuläre Applikation

Der Kontrollgruppe (K) wurden 2,0 ml physiologische Kochsalzlösung (2.1.1.19.) /kg KG/d appliziert.

Die niedere Dosisgruppe (ND) erhielt 2,0 ml/kg KG/d einer Mischung von 0,22 ml PVP-Jod K 17-Lösung 15 %ig ad 2,0 ml mit physiologischer Kochsalzlösung (2.1.1.19.). Auch hier wurde ein Behandlungsfeld von 20 x 20 cm angenommen. Ferner wurde vorausgesetzt, daß die auf dieser

Fläche ausgestrichene Menge der Prüfsubstanz vollständig resorbiert wird. Durch Bestreichen von 10 Papierbögen à 20 x 20 cm mit der PVP-Jod-Lösung und Ermittlung der Gewichts-differenzen wurde ein Mittelwert von 1,54 g pro Behandlungsfläche erhalten. Bei einer Person von 70 kg KG entspräche diese Dosis der Applikation von 0,022 g/kg KG. Bei einer 10-fachen Sicherheit erhält man 0,22 g/kg KG. Berücksichtigt man das spezifische Gewicht der PVP-Jod K 17-Lösung von 1,0184 g/cm³, so müßte man 0,216 ml/kg KG applizieren. Aus technischen Gründen (Ablesegenauigkeit) wurde jedoch das Volumen dem Gewicht gleichgesetzt.

Die mittlere Dosisgruppe (MD) erhielt 2,0 ml/kg KG/d einer Mischung von 0,66 ml PVP-Jod K 17-Lösung 15 %ig ad 2,0 ml mit physiologischer Kochsalzlösung (2.1.1.19.). Die Dosiswahl ergab sich aus dem geometrischen Mittel von hoher und niederer Dosis.

Der hohen Dosisgruppe (HD) wurden 2,0 ml PVP-Jod K 17-Lösung 15 %ig/kg KG/d unverdünnt verabreicht. Untersuchungen über die akute Toxizität des Präparates, die in der CON-FARMA GmbH, Gelting, gemacht worden waren, hatten bei Intraperitonealer Applikation beim Kaninchen eine LD₁₀ von 2,0 ml/kg KG ergeben. Es durfte deshalb davon ausgegangen werden, daß man bei intramuskulärer Applikation dieser Menge auf jeden Fall im toxischen Bereich des Präparates liegen würde.

2.3.5.3. Orale Applikation

Der Kontrollgruppe (K) wurden 5,0 ml physiologische Kochsalzlösung (2.1.1.19.) /kg KG/d appliziert.

Die niedrige Dosisgruppe (ND) erhielt 5,0 ml/kg KG/d einer Mischung von 0,5 ml PVP-Jod K 17-Lösung 15 %ig ad 5,0 ml mit physiologischer Kochsalzlösung (2.1.1.19.).

Zur Wahl dieser Dosis ist zu sagen, daß das zu untersuchende PVP-Jod-Präparat als 1 %ige Lösung für Mundspülungen auf den Markt gebracht werden soll. Es wurde davon ausgegangen, daß ein Verbraucher nicht nur spült, sondern einen größeren Schluck vollständig verschluckt. Ein solcher Schluck wurde mit 50 ml angenommen. Bei einer 1 %igen Lösung entspricht dieses Volumen einer Menge von 0,5 g PVP-Jod, bei einer Person mit 70 kg KG somit einer Dosis von 7,2 mg PVP-Jod/kg KG. Da 0,05 ml einer 15 %igen PVP-Jod-Lösung 7,5 mg PVP-Jod enthalten und zusätzlich noch eine 10-fache Sicherheit eingehalten werden sollte, wurden den Tieren 0,5 ml PVP-Jod K 17-Lösung/kg KG/d verabreicht.

Die mittlere Dosisgruppe (MD) bekam 5,0 ml/kg KG/d einer Mischung von 1,6 ml PVP-Jod K 17-Lösung 15 %ig ad 5,0 ml mit physiologischer Kochsalzlösung (2.1.1.19.). Die Dosis ergab sich aus dem geometrischen Mittel von niederer und hoher Dosis.

Der hohen Dosisgruppe (HD) wurden 5,0 ml/kg KG/d der PVP-Jod K 17-Lösung 15%ig unverdünnt appliziert. Da in der CONFARMA GmbH, Gelting, die Ergebnisse einer akuten oralen Toxizität des Präparates am Kaninchen vorlagen, konnte mit 5,0 ml eine Dosis gewählt werden, die mit Sicherheit im toxischen Bereich lag.

2.3.6. Hämatologische Untersuchungen

2.3.6.1. Erythrozyten

Bestimmung erfolgte im Coulter Counter HC 333 (CLINICON MANNHEIM GMBH, 6800 Mannheim-1). Angabe in $10^6/\mu\text{l}$.

2.3.6.2. Leukozyten

Bestimmung erfolgte im Coulter Counter HC 333 (CLINICON MANNHEIM GMBH, 6800 Mannheim-31. Angabe in $10^3/\mu\text{l}$.

2.3.6.3. Hämoglobin

Wurde photometrisch (540 nm) im System HC 333 (CLINICON MANNHEIM GMBH, 6800 Mannheim-31) als Hämoglobincyanid (2.1.1.16.) bestimmt. Angabe in g/100 ml.

2.3.6.4. Hämatokrit

Wurde mit der Select-a-fuge (CLINICON MANNHEIM GMBH, 6800 Mannheim-31) bestimmt. Angabe in %.

2.3.6.5. Retikulozyten

Die Bestimmung erfolgte durch Auszählung mittels 1 %iger Brilliantkresylblau-Lösung (2.1.1.4.). Angabe in ‰.

2.3.6.6. Thrombozyten

Die Zählung der Thrombozyten erfolgte nach Färbung mit Thrombofix[®] (2.1.1.32.) in der Zählkammer nach Neubauer. Angabe in $10^3/\mu\text{l}$.

2.3.6.7. Differentialblutbild

Die weißen Blutkörperchen wurden mit Hilfe der Färbung nach Pappenheim (2.1.1.14. und 2.1.1.21.) differenziert. Unterschieden wurden: Basophile-, Eosinophile-, Segmentkernige Neutrophile- und Stabkernige Neutrophile Granu-

lozyten sowie Lymphozyten und Monozyten. Die Angaben wurden jeweils in % gemacht.

2.3.6.8. Quick-Wert-Bestimmung

Die Einphasengerinnungszeit nach Quick wurde mit Kapillar-Citratblut (Einmal-Mikropipetten 20 und 100 µl, Blaubrand intraMARK[®], BRAND GMBH & CO., 6980 Wertheim) im Coagulometer nach Schnitger und Gross (ULRICH, 7900 Ulm) mit Calcium-Thrombokinase-Reagenz (2.1.1.5., 2.1.1.6. und 2.1.1.18.) in sec. bestimmt.

2.3.6.9. Blutungszeit

Die Bestimmung der Blutungszeit wurde in Anlehnung an Duke (DUKE, W.W., 1912) für das Kaninchen wie folgt variiert: im oberen Ohrdrittel wurde mit einer Kanüle (Sterikan[®] L 1, BRAUN MELSUNGEN AG, 3580 Melsungen) die V. auricularis lateralis punktiert. Alle fünf Sekunden wurde mit einem Tupfer der sich bildende Blutstropfen aufgesaugt. Dies wurde solange wiederholt, bis sich kein neuer Tropfen mehr bildete. Die Zeit vom Einstich bis zum Ende des Blutens wurde gestoppt. Angabe in sec.

2.3.7. Klinisch-chemische Untersuchungen

2.3.7.1. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT optimiert)

Die Bestimmung erfolgte mit dem Merckotest[®] GOT (UV opt.) (2.1.1.22.) in einem Perkin-Elmer 124 Photometer (PERKIN ELMER, 7770 Überlingen) bei 340 nm. Angabe in U/l.

2.3.7.2. Alkalische Phosphatase (AP optimiert)

Wurde mit Monotest[®] Alkalische Phosphatase (AP) opt. (2.1.1.23.) an einem Enzymmeßplatz, Photometer 1101 M mit Rechner CKE 6454 (EPPENDORF GMBH, 2000 Hamburg-65) bei 405 nm bestimmt. Angabe in U/l.

2.3.7.3. Creatinin Kinase (CK NAC aktiviert)

Wurde mit Monotest[®] Creatinin-Kinase (CK NAC akt.) (2.1.1.25.) an einem Enzymmeßplatz, Photometer 1101 M mit Rechner CKE 6454 (EPPENDORF GMBH, 2000 Hamburg-65) bei 334 nm bestimmt. Angabe in U/l.

2.3.7.4. Harnstoff

Die Bestimmung erfolgte mit einer Harnstoff-Test-Combination[®] (2.1.1.17.) an einem Substratmeßplatz MES (EPPENDORF GMBH, 2000 Hamburg-65) bei 550 nm nach der Methode von Berthelot (FAWCETT, J.K., SCOTT, J.E., 1960). Angegeben in mmol/l.

2.3.7.5. Bilirubin

Das Gesamt-Bilirubin wurde mit dem Monotest[®] 10 Bilirubin (2.1.1.24.) an einem Substratmeßplatz MES (EPPENDORF GMBH, 2000 Hamburg-65) nach der DPD-Methode bei 546 nm bestimmt. Angabe in $\mu\text{mol/l}$.

2.3.7.6. Natrium (Na^+), Kalium (K^+) und Calcium (Ca^{++})

Wurden flammenphotometrisch in einem Eppendorf Flammenphotometer 700 (EPPENDORF GMBH, 2000 Hamburg-65) bestimmt.

Alle angegeben in mmol/l.

2.3.7.7. Thyroxin (T_4)

Wurde mit dem Enzymun-Test T_4 ® (2.1.1.10.) in einem Eppendorf Photometer 6120 (EPPENDORF GMBH, 2000 Hamburg-65) bei 405 nm bestimmt. Angabe in µg/dl.

2.3.7.8. Trijodthyronin (T_3)

Die Bestimmung erfolgte mit dem Enzymun-Test T_3 ® (2.1.1.9.) in einem Eppendorf Photometer 6120 (EPPENDORF GMBH, 2000 Hamburg-65) bei 405 nm. Angegeben in ng/ml.

2.3.7.9. Thyroxin-Bindungskapazität

Die Bestimmung der Thyroxin-Bindungskapazität (entspricht dem Thyroxin-Bindungsindex = TBI) erfolgte mit dem Enzymun-Test TBK® (2.1.1.8.) in einem Eppendorf-Photometer 6120 (EPPENDORF GMBH, 2000 Hamburg-65) bei 405 nm. Die Angaben sind dimensionslos.

2.3.7.10. Freier Thyroxin-Index (FT_4I)

Dimensionsloser Index, der sich aus dem Verhältnis von T_4 zu TBK ergibt.

2.3.7.11. Gesamt-Jod-Bestimmung

Die Bestimmung wurde vom Eidgenössischen Institut für Reaktorforschung (EIR, CH-5303 Würenling) im Vollblut wie folgt durchgeführt: Bestrahlung der in Stickstoff ausgefrorenen Proben für 2 Minuten im Reaktor SAPHIR mit epi-

thermischen Neutronen (epithermischer Neutronenfluß ca. 10^{11} n/sec cm²). Die Proben wurden 7 Minuten nach Bestrahlungsende mit einem GeLi-Halbleiterdetektor für 20 Minuten gamma-spektrometrisch gemessen. Die gleichzeitig bestrahlten Jod-Standards ($m=4,16$ µg) wurden 30 Minuten nach Bestrahlungsende gemessen. Die Angaben erfolgten in ppm und wurden in µg/ml umgerechnet.

2.3.8. Urinuntersuchung

2.3.8.1. pH-Wert

Die Ermittlung des pH-Wertes erfolgte mit einem pH-Meter E 512 (DEUTSCHE METROHM GMBH & CO., 7024 Filderstadt-1).

2.3.8.2. Dichtebestimmung

Erfolgte mit einem nach DAB 7 geeichten Pygrometer. Angegeben in g/cm³.

2.3.8.3. Chemische Parameter

Wurden mit Combur ⁸ Teststreifen[®] (2.1.1.7.) bestimmt. Angegeben sind: NO₂ qualitativ; Eiweiß in g/l; Glukose in g/l; Ketonkörper qualitativ; Urobilinogen in mg/dl; Bilirubin qualitativ; Blut in Erythrozyten/µl.

2.3.8.4. Mikroskopische Untersuchung

Sie erfolgte an einem Olympus BH-B Mikroskop mit Phasenkontrasteinrichtung (OLYMPUS OPTICAL COMPANY, Tokyo, Japan).

Da es sich im Rahmen des Jodbilanzversuches um Harn handelte, der über 24 Stunden hinweg gesammelt worden war, konnten nur Sedimente kristalliner Natur bestimmt werden. Unterschieden wurden dabei Tripelphosphat, Ca-Monohydrogencarbonat, Ca-Carbonat, Ca-Phosphat sowie vereinzelt vorkommende Cystin-, Tyrosin- und Lycinkristalle (ALTMAYER, B., 1980; FLATT, R.E., CARPENTER, A.B., 1971). Für die quantitative Erfassung der Kristalltypen wurde folgendes Schema erstellt:
Bei 100-facher Vergrößerung -

mehr als 20	pro Gesichtsfeld	+++
5 - 20	pro Gesichtsfeld	++
1 - 5	pro Gesichtsfeld	+
In mehreren Gesichtsfeldern		
vereinzelte Kristalle		+/-
keine Kristalle		-

2.3.8.5. Gesamt-Jod-Bestimmung

Erfolgte entsprechend 2.3.7.11.

2.3.9. Kotuntersuchung

2.3.9.1. Gesamt-Jod-Bestimmung

Erfolgte entsprechend 2.3.7.11.

2.3.10. Sektion

Nach 28 tägiger Versuchsdauer wurden sämtliche Tiere nach Tötung mit Nembital[®] (2.1.1.26.) und Entbluten seziert und auf pathologische Veränderungen hin untersucht. Ebenfalls seziert und untersucht wurden alle Tiere, die während des Versuches ad exitum gekommen waren. Die Sektion und Anfertigung der Sektionsprotokolle erfolgte entsprechend den Richt-

linien des Institutes für Tierpathologie, München (GEISEL, O., 1976).

2.3.11. Histologie

Von allen Tieren der Kontrollgruppe sowie der hohen Dosisgruppe wurden für histologische Untersuchungen Gewebeproben von folgenden Organen entnommen und in 10 %iges Formalin (2.1.1.13.) eingelegt: Trachea, Ösophagus, Schilddrüse, Gld. mandibularis, Ln. mandibularis, Herz, Lunge, Großhirn, Kleinhirn, Hypophyse, Magen, Jejunum, Colon, Caecum, Pankreas, Leber, Gallenblase, Nebennieren, Thymus, Niere, Skelettmuskulatur, N. ischiaticus, Harnblase, Hoden bzw. Ovarien, Samenleiterblase bzw. Vagina und Uterus. Die gleichen Proben wurden zudem von allen Tieren genommen, die vorzeitig verstorben waren.

Bei auffallenden makroskopischen Veränderungen wurden im Zusammenhang mit diesen Veränderungen stehende, zusätzliche Proben eingelegt.

Die histologischen Untersuchungen wurden von Dr. med. A. Martin (Institut für Pathologie, Med. Fakultät der Universität Ljubljana, Jugoslawien) und Dr. A.J. Newman (Histological Services LTD., Bromyard Road, Ledbury, Herefordshire HR8 1LG) durchgeführt.

2.4. Methodik der teratologischen Untersuchungen

2.4.1. Körpergewichtsentwicklung

Während des Applikationszeitraumes wurden die Muttertiere täglich, ansonsten wöchentlich auf einer Federwaage C 517 (BIZERBA WERKE, 7460 Balingen) gewogen.

2.4.2. Allgemeinbefinden der Tiere

Die Tiere wurden täglich auf klinische Auffälligkeiten hin untersucht.

2.4.3. Verpaarung

Je ein weibliches Tier wurde an einem Tag nacheinander mit drei verschiedenen Böcken gleicher Aufzucht und Herkunft verpaart. Nach visueller Feststellung von mindestens zwei Kopulationen fanden diese Tiere für die Prüfung des Präparates Verwendung. Tag "0" der Gestation war der Tag, an dem die Kopulationen stattgefunden hatten.

2.4.4. Applikation der Prüfsubstanz

Die Kontroll- und Testsubstanz wurde den Muttertieren während der Organogenese, das heißt vom 6. - 18. Tag post conceptionem, entsprechend 2.3.4.2. appliziert.

2.4.5. Dosisgruppen

Die Kontrollgruppe (K) erhielt 0,5 ml physiologische Kochsalzlösung (2.1.1.19.) /kg KG/d.

Der niederen Dosisgruppe (ND) wurden 0,5 ml/kg KG/d einer Mischung von 0,108 ml PVP-Jod K 17-Lösung 15 %ig ad 0,5 ml mit physiologischer Kochsalzlösung (2.1.1.19.) appliziert. Wie bei der intramuskulären Applikation wurde auch hier ein Operationsfeld von 20 x 20 cm (2.3.4.2.) zugrunde gelegt und die darauf auftragbare Menge als Bezugsgröße genommen. Allerdings wurde nur eine 5-fache Sicherheit angesetzt, da bei der Teratologie auch die hohe Dosis-

gruppe noch nicht im akut toxischen Bereich liegen sollte und bei einem größeren Sicherheitsfaktor der Mengenunterschied zwischen niederer und hoher Dosisgruppe zu gering ausgefallen wäre.

Die mittlere Dosisgruppe (MD) erhielt 0,5 ml/kg KG/d einer Mischung von 0,232 ml PVP-Jod K 17-Lösung 15 %ig ad 0,5 ml mit physiologischer Kochsalzlösung (2.1.1.19.). Die Menge ergab sich aus dem geometrischen Mittel von niederer und hoher Dosis.

Die hohe Dosisgruppe (HD) erhielt 0,5 ml PVP-Jod K 17-Lösung 15 %ig /kg KG/d unverdünnt. Für die Wahl der Dosis wurde die LD₀ einer am Kaninchen durchgeführten akuten Toxizität bei intraperitonealer Applikation (CONFARMA GMBH, 1982) zugrunde gelegt. Es durfte davon ausgegangen werden, daß man sich bei dieser Dosis noch in dem für das Muttertier untoxischen Bereich befand.

2.4.6. Gewinnung der Feten und Bestimmung der interessierenden Parameter

Am 29. Tag der Gestation wurden die Muttertiere durch intravenöse Injektion von Nembutal[®] (2.1.1.26.) abgetötet und nach Sectio caesarea folgende Parameter festgehalten:

- Anzahl der Feten
- Anzahl der Plazenten
- Anzahl der Corpora lutea
- Anzahl der Implantationen
- Anzahl der Resorptionen mit Differenzierung in frühe (keine Körperformen des Feten mehr erkennbar) und späte (Körperform des Feten noch erkennbar)
- Ermittlung der Fetenlage im Uterus
- Bestimmung der Lebensfähigkeit (nach Entwicklung des Fe-

- ten spontan einsetzende Schnappatmung und Bewegung)
- Bestimmung der Fetengewichte
 - Bestimmung der Plazentengewichte
 - Bestimmung des Geschlechts der Feten
 - Äußere Adspektion der Feten (Lippen- und Gaumenspalten, Schädeldefekte, Anzahl der Akropodien vorn und hinten, Augenschluß, Defekte im Ano-Genitalbereich, Schwanzform)
 - Pathologische Veränderungen am Muttertier

2.4.7. Weiterführende Untersuchung der Feten

2.4.7.1. Tötung und Sektion der Feten

Nach Tötung der Feten in Äther (2.1.1.1.) wurden diese seziiert und folgende Organe auf makroskopisch sichtbare, pathologische Veränderungen hin untersucht: Herz, Lunge, Magen, Leber, Gallenblase, Darmtrakt, Nieren, Gonaden und Zwerchfell.

2.4.7.2. Skelettfärbung nach Dawson

Nach Sektion und Beurteilung der inneren Organe wurden ca. zwei Drittel aller Feten der Skelettfärbung nach Dawson (DAWSON, A.B., 1926) unterzogen. Diese wurde für die Kaninchenfeten wie folgt abgeändert: *

1. Fixieren der Feten in 70 %igem Alkohol (2.1.1.3.) für 4 - 7 Tage.
2. Anschließend einlegen in 1,5 %ige Kalilauge (2.1.1.20.), bis die Knochen durch das Muskelgewebe hindurch erkennbar sind. Dauer etwa 4 - 6 Tage.
3. Darauf folgt eine 24 - 36 Stunden dauernde Färbung des Skeletts der Feten mit einer Alizarinrot- Lösung folgender Zusammensetzung: 1 g Alizarin S (2.1.1.2.) ad 10 ml mit

*: Eine Abänderung der ursprünglich von Dawson beschriebenen Methode war nötig, da diese für die wesentlich kleineren Feten von Ratten entwickelt worden war.

Äthanol (2.1.1.12.), diese 10 ml ad 1 l mit 0,7 %iger Kalilauge (2.1.1.20.).

4. Dann Lagerung der Feten in Malscher-Lösung (760 ml H₂O + 230 ml Glycerin 86,5 %ig (2.1.1.15.) + 10 ml Kalilauge (2.1.1.20.) 4 %ig) für mindestens zwei Tage.

Die Lösung wurde täglich gewechselt.

5. Überführung der Feten in die aufsteigende Glycerinreihe, die aus folgenden Stufen besteht: 30 %, 60 %, 80 %, 86 % und 100 %iges Glycerin (2.1.1.15.). Die Verweildauer der Feten in jeder Stufe sollte nicht kürzer als vier Tage sein. Für die Dauerlagerung wurden die Feten nach der letzten Stufe nochmals in frisches, 100 %iges Glycerin (2.1.1.15.) überführt.

Die so gefärbten Feten wurden auf Knochenmißbildungen und mangelnde Ossifikation hin untersucht.

2.4.7.3. Untersuchung nach Wilson

Der Rest der Feten wurde nach der Sektion für die Untersuchung nach der Wilson'schen Schnittmethode (WILSON, J.G., 1965) in Bouin'sche Lösung (15 Teile einer gesättigten, wässrigen Pikrinsäure-Lösung (2.1.1.27.) + 5 Teile Formalin (2.1.1.13.) + 1 Teil Eisessig (2.1.1.11.)) eingelegt.

Die Anfertigung und Interpretation der Schnitte erfolgte durch Dr. P. Ridgway (Toxicol Laboratories LTD., Ledbury, Herefordshire HR 8 ILG, England).

2.4.8. Berechnung teratologisch wichtiger Parameter

2.4.8.1. Resorptionsrate

Zahl der Resorptionen in % der Implantationen:

$$= \frac{\text{Anzahl der Resorptionen}}{\text{Anzahl der Implantationen}} \times 100$$

2.4.8.2. Postimplantationsverlust

$$= \frac{\text{Implantationen} - \text{lebende Feten}}{\text{Implantationen}} \times 100$$

Angegeben in Prozent.

2.4.8.3. Präimplantationsverlust

$$= \frac{\text{Corpora lutea} - \text{Implantationen}}{\text{Corpora lutea}} \times 100$$

Angegeben in Prozent.

2.4.8.4. Mißbildungsrate

$$= \frac{\begin{array}{l} \text{Anzahl der makroskopisch sichtbaren} \\ \text{Mißbildungen an Skelett und inneren} \\ \text{Organen} \end{array}}{\text{Anzahl der lebenden Feten}} \times 100$$

Angegeben in Prozent.

2.5. Statistische Auswertung

Bei den Parametern der subakuten Toxikologie wurde zur Absicherung signifikanter Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchstieren der U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney (SACHS, L., 1968; WEBER, E., 1972) durchgeführt.

3. ANTEILSMÄSSIGE AUFTEILUNG
 DER UNTERSUCHUNGEN

Der Umfang und die Art der Prüfungen waren vorgegeben durch gesetzliche Vorschriften, internationale Normen und Wünsche des Auftraggebers.

Die zeitliche Planung der Durchführung der Versuche wurde von mir gestaltet.

Im Rahmen der subakuten Toxizität oblagen mir die tägliche Applikation der Prüfsubstanz, die Bestimmung der Futteraufnahme, des Urin- und Kotabsatzes sowie die Gewinnung sämtlicher für die weiteren Untersuchungen nötigen Blutproben. Ferner hatte ich die Tiere einer täglichen klinischen Untersuchung zu unterziehen und dabei festgestellte Veränderungen zu protokollieren.

Die Sektionen der Tiere, die im Verlaufe des Versuches verstarben führte Herr Dr. med. vet. L. Krušić (CONFARMA GmbH) durch. Sämtliche zu Versuchsende durchgeführten Sektionen sowie die dazugehörigen Aufzeichnungen wurden hingegen von mir durchgeführt.

Während die Blutungszeit von mir bestimmt wurde, führte Frau Dipl. Chem. H. Daniel (CONFARMA GmbH) die Bestimmung der GOT und der Quick-Werte durch. Ihr oblag ferner die Messung der physikalischen und chemischen Parameter der Urin-Proben. Hingegen wurde die mikroskopische Untersuchung des Harnsediments von mir durchgeführt.

Alle übrigen hämatologischen sowie klinisch-chemischen Parameter wurden von Herrn Dipl. Chem. P. Dietz (Labor für klinische Chemie, Gelting) durchgeführt, wobei ich in die anzuwendenden Methoden eingeführt wurde, und sofern es meine Zeit zuließ, persönlich bei der Durchführung der Untersuchungen anwesend war.

Die Bestimmung des Jodgehaltes im Blut, Harn und Kot erfolgte am EIR (Eidgenössisches Institut für Reaktorforschung, CH-5303 Würenling).

Die histologische Aufarbeitung sowie Beurteilung der bei der Sektion genommenen Proben erfolgte durch Dr. med. A. Martin (Institut für Pathologie, Med. Fakultät, YU-61000 Ljubljana) sowie Herrn Dr. A. J. Newmann (Histological Service LTD, Bromyard Road, Ledbury, Herefordshire HR 8 ILG).

Die teratologischen Untersuchungen wurden, abgesehen von der Beurteilung der nach WILSON präparierten Feten, die Herr Dr. P. Ridgway (Toxicol Laboratories LTD, Ledbury, Herefordshire HR 8 ILG) durchführte, vollständig von mir gemacht.

Während des Versuches wurden mir eine VMTA sowie zwei Tierpfleger soweit nötig zur Verfügung gestellt.

Nach Abschluß der Versuche oblag es mir sämtliche, auch die extern gewonnen Daten, auszuwerten und in tabellarischer oder graphischer Form darzustellen.

4. ER G E B N I S S E

4.1. Subakute Toxizität

4.1.1. Dermale Applikation

4.1.1.1. Futtermverbrauch

Die in Abb. 2 dargestellten mittleren Futteraufnahmen der drei Dosisgruppen weisen im Verlaufe der Untersuchung keine signifikanten Unterschiede zu der mittleren Futteraufnahme der Kontrolltiere auf.

4.1.1.2. Körpergewichtsentwicklung

Ein Unterschied zwischen den Tieren, die die Prüfsubstanz verabreicht bekamen und der Kontrollgruppe ist nicht festzustellen. Wie Abb. 3 zeigt, ist allgemein eine Zunahme des Körpergewichtes zum Versuchsende hin zu beobachten, was bei jungen Tieren, die noch nicht ausgewachsen sind auch zu erwarten ist.

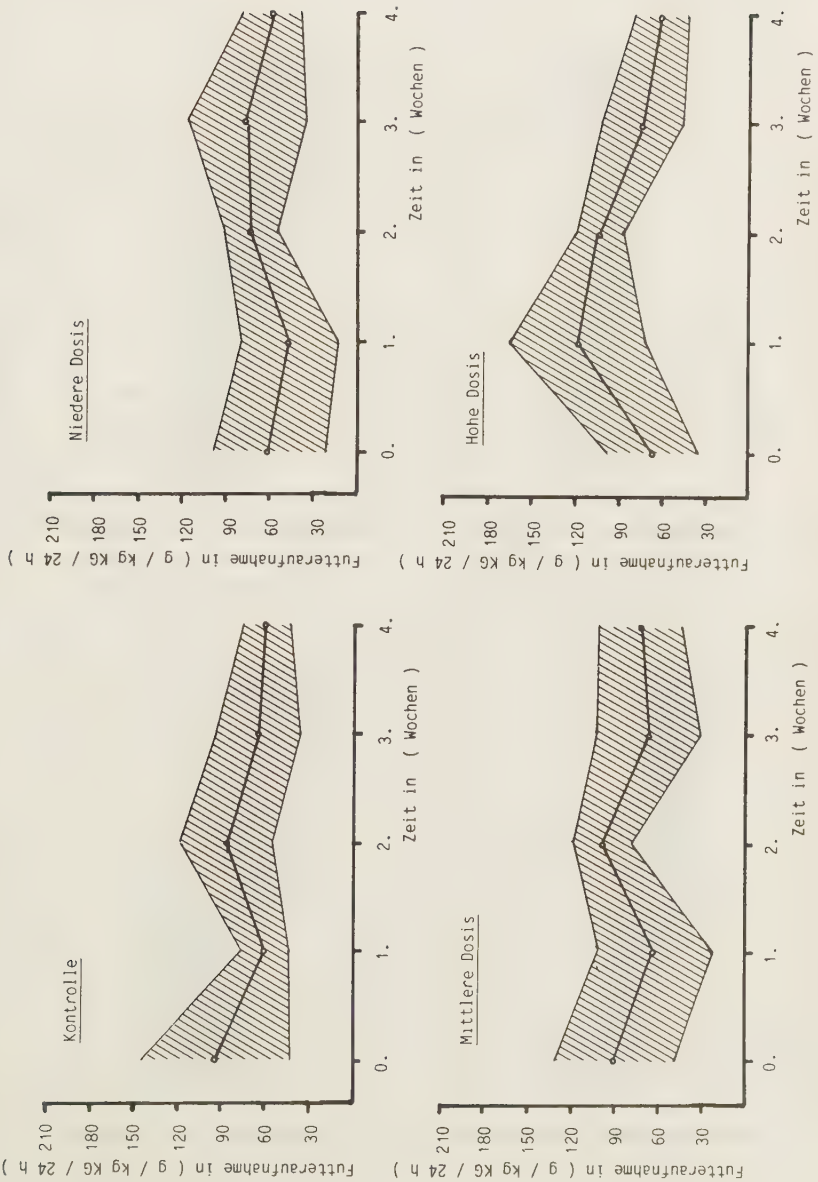
4.1.1.3. Ergebnisse der klinischen Untersuchung

Bei einzelnen Tieren der Kontrollgruppe sowie aller drei Dosisgruppen traten Rötungen und Schorfbildungen im Bereich des Verbandes auf.

In einem Fall wurde in der hohen Dosisgruppe die Lähmung beider Hintergliedmaßen beobachtet.

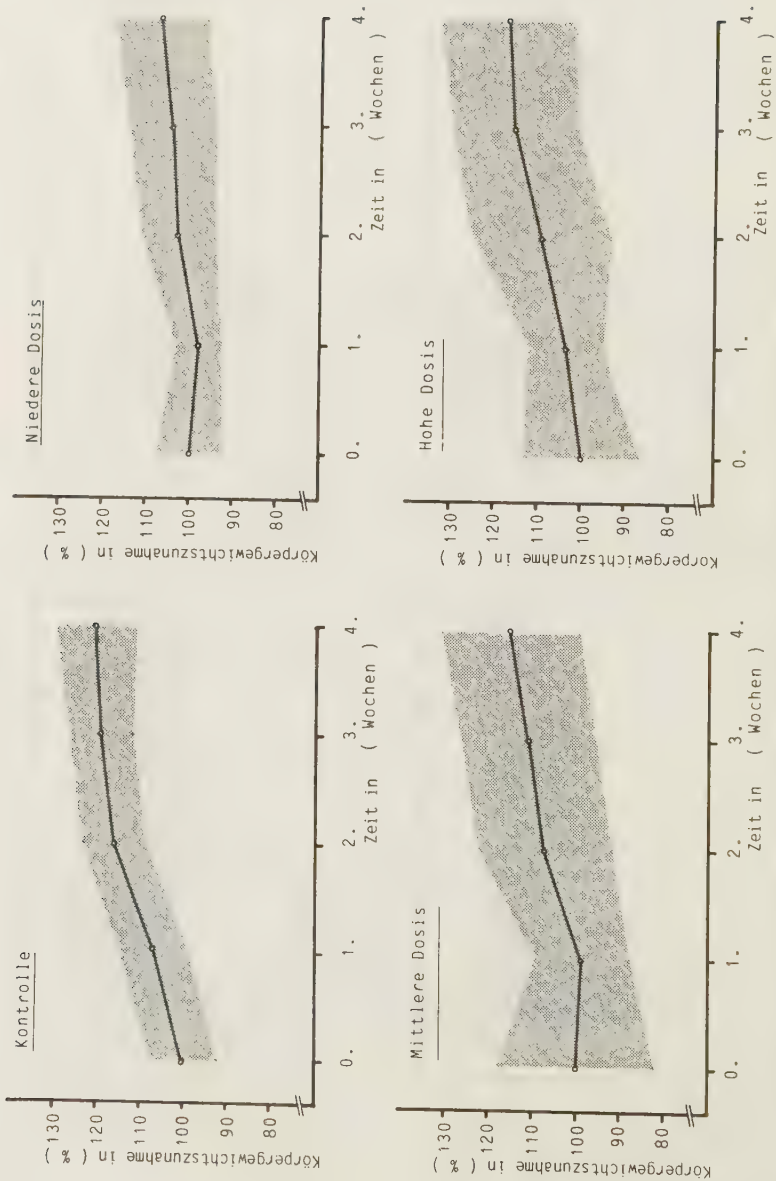
Weitere Beeinträchtigungen des Allgemeinbefindens durch die Substanzapplikation waren nicht feststellbar.

ABBILDUNG 2



Verlauf der mittleren Futtermittelaufnahme bei Kontroll- sowie Dosisgruppen nach dermalen Applikation des Präparates. Der schraffierte Bereich stellt die Standardabweichung dar. Die Gruppengröße lag zwischen 8 und 10 Tieren (s. a. Abb. 3).

ABBILDUNG 3



Verlauf der auf das Ausgangsgewicht bezogenen, mittleren prozentualen Körpergewichtszunahme bei Kontroll- sowie Dosisgruppen nach dermalen Applikation des Präparates. Der gepunktete Bereich stellt die Standardabweichung dar. Die Gruppengröße lag zwischen 8 und 10 Tieren (s. a. Abb. 3).

4.1.1.4. Mortalitätsrate

Wie aus Abb. 4 hervorgeht, kam es in der 2. Woche sowohl in der mittleren als auch in der hohen Dosisgruppe zu je einem Todesfall. In der hohen Dosisgruppe kam in der 3. Woche noch ein weiterer dazu.

4.1.1.5. Hämatologie

Tabelle II zeigt die Ergebnisse der hämatologischen Untersuchungen in einer Übersicht. Aufgeführt sind jeweils Mittelwert und Standardabweichung.

Während Erythrozytenzahl, Hämoglobin, Hämatokrit, Thrombozyten und Retikulozyten keine dosisabhängigen oder im zeitlichen Verlauf des Versuches auftretenden, signifikanten Veränderungen aufweisen, fällt bei der Gesamtleukozytenzahl bei allen Gruppen ein Anstieg während des Versuches auf.

Das Differentialblutbild läßt, wie auch die Werte des Quick-Testes, keine dosisabhängigen oder im zeitlichen Verlauf des Versuches entstandenen Veränderungen erkennen.

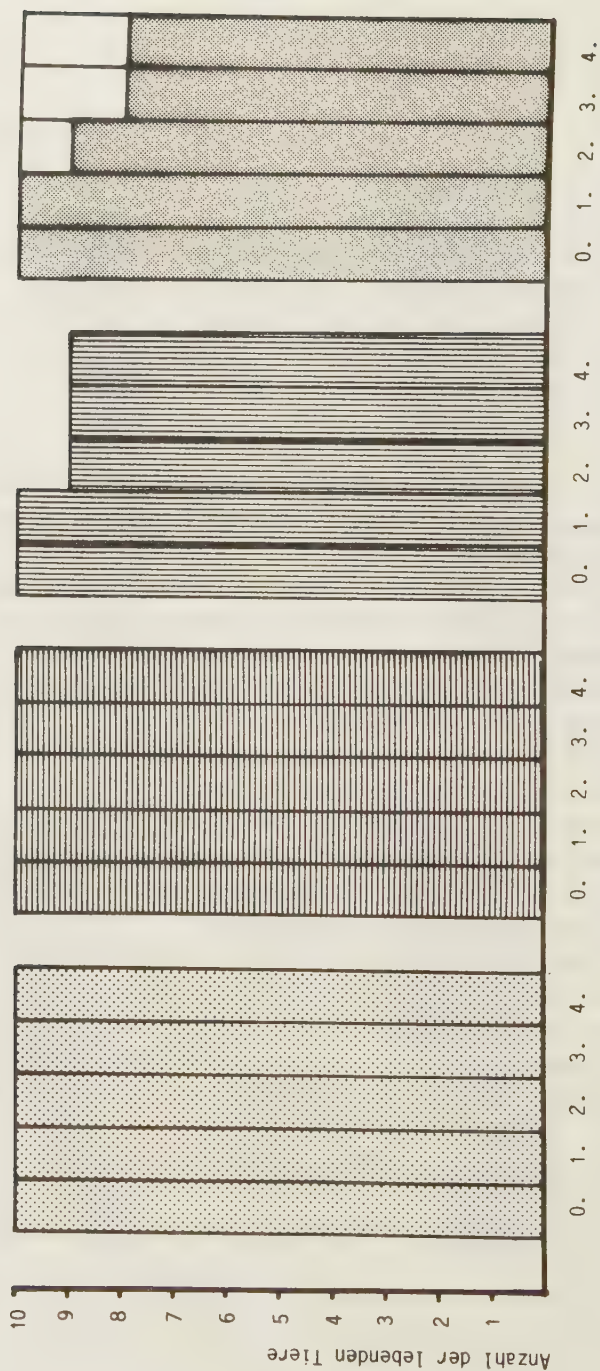
Lediglich bei den eosinophilen Granulozyten ist in der 4. Woche bei allen Gruppen, die das Prüfpräparat erhielten, ein dosisunabhängiger Anstieg festzustellen.

Bei der Blutungszeit fallen große Unterschiede der Mittelwerte auf. Allerdings war die Streuung der Einzelwerte in den einzelnen Gruppen sehr groß, was auch durch die grossen Standardabweichungen belegt wird. Eine Korrelation zwischen applizierter Dosis und der Blutungszeit war nicht zu erkennen.

4.1.1.6. Klinische Chemie des Blutes

Bei der alkalischen Phosphatase ist in allen Fällen zum

ABBILDUNG 4



Mortalitätsrate von Kontroll- und Dosierungsgruppen im zeitlichen Verlauf bei dermalen Applikation des Präparates.



: Kontrolle

: Niedere Dosis

: Mittlere Dosis

: Hohe Dosis



: Die so dargestellten Tiere kamen nicht durch das Präparat, sondern Umstände, wie Applikationsfehler u. ä. zu Tode.

TABELLE II

Parameter	Dosisgruppe	Nullwert	1. Woche	4. Woche
Erythro- zyten ($10^9/\mu\text{l}$)	K	4,22 $\pm$ 0,54	5,30 $\pm$ 1,60	5,00 $\pm$ 0,10**
	ND	4,26 $\pm$ 1,22	4,70 $\pm$ 0,90	4,60 $\pm$ 0,40
	MD	3,63 $\pm$ 1,54	5,20 $\pm$ 0,80	4,80 $\pm$ 0,30
	HD	4,52 $\pm$ 1,70	5,20 $\pm$ 1,40	4,40 $\pm$ 0,40
Hämoglo- bin (g/100 ml)	K	9,7 $\pm$ 0,93	11,9 $\pm$ 3,10	10,8 $\pm$ 0,10**
	ND	9,7 $\pm$ 2,51	10,6 $\pm$ 1,60	10,1 $\pm$ 0,80
	MD	8,7 $\pm$ 3,16	11,3 $\pm$ 1,20	10,3 $\pm$ 0,70
	HD	9,8 $\pm$ 3,70	11,9 $\pm$ 3,10	9,4 $\pm$ 0,40
Hämato- krit (%)	K	31,0 $\pm$ 7,4	32,6 $\pm$ 9,0	36,4 $\pm$ 0,0**
	ND	31,2 $\pm$ 7,6	31,3 $\pm$ 6,5	34,7 $\pm$ 2,8
	MD	28,5 $\pm$ 11,4	34,1 $\pm$ 4,4	34,9 $\pm$ 3,2
	HD	31,0 $\pm$ 11,7	34,5 $\pm$ 6,8	32,6 $\pm$ 2,3
Leuko- zyten ($10^6/\mu\text{l}$)	K	4,48 $\pm$ 1,93	6,20 $\pm$ 1,70	4,70 $\pm$ 0,90**
	ND	4,69 $\pm$ 1,92	6,80 $\pm$ 3,50	8,30 $\pm$ 2,80
	MD	5,48 $\pm$ 1,28	9,60 $\pm$ 5,20	7,80 $\pm$ 3,80
	HD	4,32 $\pm$ 2,49	6,90 $\pm$ 1,40	6,70 $\pm$ 1,00
Thrombo- zyten ($10^3/\mu\text{l}$)	K	137,4 $\pm$ 42,0	141,0 $\pm$ 28,0	159,2 $\pm$ 30,3**
	ND	84,6 $\pm$ 40,5	132,0 $\pm$ 19,0	129,0 $\pm$ 16,0
	MD	107,3 $\pm$ 46,0	125,0 $\pm$ 26,0	145,6 $\pm$ 14,9
	HD	165,0 $\pm$ 45,0	152,0 $\pm$ 26,0	178,0 $\pm$ 21,0
Retiku- lozyten (%)	K	25,7 $\pm$ 12,7	41,0 $\pm$ 22,0	24,0 $\pm$ 8,1**
	ND	20,5 $\pm$ 4,7	31,0 $\pm$ 11,0	24,4 $\pm$ 8,9
	MD	27,8 $\pm$ 12,9	30,6 $\pm$ 14,7	28,9 $\pm$ 12,4
	HD	18,0 $\pm$ 7,1	44,6 $\pm$ 26,8	29,8 $\pm$ 9,3
Baso- phile (%)	K	0,6 $\pm$ 0,9	0,2 $\pm$ 0,45	0,0 **
	ND	0,2 $\pm$ 0,5	0,0	0,0
	MD	0,2 $\pm$ 0,5	0,2 $\pm$ 0,5	0,0
	HD	0,4 $\pm$ 0,9	0,4 $\pm$ 0,6	0,0
Eosino- phile (%)	K	1,8 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 1,3	2,0 $\pm$ 1,0**
	ND	1,8 $\pm$ 1,9	1,0 $\pm$ 0,7	6,6 $\pm$ 3,5
	MD	1,0 $\pm$ 1,2	1,2 $\pm$ 1,1	4,8 $\pm$ 2,9
	HD	1,0 $\pm$ 1,7	1,0 $\pm$ 1,0	3,4 $\pm$ 1,9
Segment- kernige (%)	K	28,6 $\pm$ 1,9	31,6 $\pm$ 6,2	23,0 $\pm$ 6,2**
	ND	27,6 $\pm$ 3,0	33,2 $\pm$ 10,1	30,6 $\pm$ 10,1
	MD	26,0 $\pm$ 2,5	25,6 $\pm$ 3,1	23,0 $\pm$ 3,5
	HD	30,6 $\pm$ 4,6	28,2 $\pm$ 4,0	30,4 $\pm$ 6,6
Stab- kernige (%)	K	0,2 $\pm$ 0,5	0,0	1,0 $\pm$ 0,0**
	ND	0,0	0,0	0,8 $\pm$ 0,8
	MD	0,4 $\pm$ 0,9	0,0	0,4 $\pm$ 0,6
	HD	0,0	0,0	0,4 $\pm$ 0,6
Lympho- zyten (%)	K	68,4 $\pm$ 2,7	65,4 $\pm$ 5,9	72,3 $\pm$ 4,7**
	ND	70,4 $\pm$ 4,0	65,0 $\pm$ 10,2	61,6 $\pm$ 13,8
	MD	69,6 $\pm$ 2,7	70,8 $\pm$ 5,2	71,2 $\pm$ 1,9
	HD	67,8 $\pm$ 3,3	70,6 $\pm$ 3,1	65,4 $\pm$ 5,7
Mono- zyten (%)	K	0,2 $\pm$ 0,5	0,6 $\pm$ 0,6	1,3 $\pm$ 1,5**
	ND	0,0 $\pm$ 0,8	0,8 $\pm$ 0,8	0,4 $\pm$ 0,6
	MD	0,6 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,6	0,4 $\pm$ 0,6
	HD	0,2 $\pm$ 0,5	0,2 $\pm$ 0,5	0,4 $\pm$ 0,6
Quick (sec)	K	24,7 $\pm$ 5,1	20,2 $\pm$ 5,9	20,6 $\pm$ 0,7
	ND	21,2 $\pm$ 3,2	20,9 $\pm$ 1,6	18,2 $\pm$ 6,8
	MD	19,1 $\pm$ 5,8	19,2 $\pm$ 1,1	16,9 $\pm$ 4,5
	HD	22,6 $\pm$ 1,3	22,6 $\pm$ 2,9	20,4 $\pm$ 2,6
Blutungs- zeit (sec)	K	34,0 $\pm$ 20,1	11,0 $\pm$ 2,2	8,0 $\pm$ 4,5
	ND	23,0 $\pm$ 4,5	17,0 $\pm$ 8,4	32,0 $\pm$ 20,8
	MD	16,0 $\pm$ 5,5	12,0 $\pm$ 4,5	16,0 $\pm$ 15,9
	HD	18,0 $\pm$ 7,6	16,0 $\pm$ 5,5	9,0 $\pm$ 4,2

Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der hämatologischen Werte bei dermalen Applikation des Präparates. Alle nicht extra gekennzeichneten Werte sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus einer Gruppe von 5 Tieren; bei Werten mit * sind es 4, bei Werten mit ** sind es 3 Tiere.

K : Kontrolle; ND : niedere Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.

Versuchsende hin ein Absinken zu verzeichnen, ohne daß jedoch ein signifikanter Bezug zur Dosis besteht.

Während die Glutamat-Oxalacetat-Transferase (GOT) keine deutlichen Veränderungen im zeitlichen Verlauf des Versuches bei Kontroll- und Dosisgruppen aufweist, erweist sich die Creatin-Kinase (CK) bei allen Gruppen zu Beginn des Versuches als signifikant erhöht ($p < 0,005$).

Auch die K^+ - und Ca^{++} -Werte sind zu Versuchsbeginn etwas erhöht.

Na^+ hingegen weist keine dosis- oder zeitabhängigen Veränderungen auf.

Dasselbe gilt für Bilirubin.

Beim Harnstoff allerdings unterscheiden sich Null- und 4-Wochenwert in allen Dosisgruppen signifikant ($p < 0,025$). Jedoch ist keine dosisabhängige Veränderung festzustellen.

Auch die Schilddrüsenhormone, Trijodthyronin (T_3) und Thyroxin (T_4), sowie die Thyroxinbindungskapazität (TBK) weisen keine dosisabhängigen Veränderungen auf.

Der zwischen der 1. und 4. Woche bei allen Gruppen signifikant ($p < 0,025$) angestiegene FT_4 -Index läßt ebenfalls keine dosisabhängigen Veränderungen erkennen.

Eine Übersicht über die Ergebnisse der klinischen Chemie gibt Tabelle III.

4.1.1.7. Ergebnisse der Harnuntersuchung

Wie aus Tabelle IV ersichtlich, treten neben vereinzelt Abweichungen von der Norm zu Versuchsbeginn und in der 4. Woche, vor allem nach einer Woche erhöhte Eiweiß-, Ketonkörper- und Urobilinogenwerte auf, wobei in drei Fällen auch Erythrozyten im Harn nachgewiesen werden konnten.

Ein Zusammenhang zwischen der Dosis der zu prüfenden Sub-

TABELLE III

Parameter	Dosisgruppe	Nullwert	1. Woche	4. Woche
GOT opt. (AsAl) (U/l)	K	12,4 $\pm$ 7,0	20,4 $\pm$ 8,6	25,9 $\pm$ 2,4
	ND	22,1 $\pm$ 12,1	23,4 $\pm$ 9,2	27,0 $\pm$ 9,1
	MD	19,5 $\pm$ 6,1	29,4 $\pm$ 7,3	20,4 $\pm$ 5,3
	HD	16,5 $\pm$ 9,9	26,8 $\pm$ 11,7	18,9 $\pm$ 2,5
CK (NAC akt.) (U/l)	K	1759 $\pm$ 377	245 $\pm$ 147	294 $\pm$ 208
	ND	1328 $\pm$ 431	532 $\pm$ 231	166 $\pm$ 70
	MD	1749 $\pm$ 870	334 $\pm$ 170	372 $\pm$ 196
	HD	2274 $\pm$ 858	306 $\pm$ 100	129 $\pm$ 64
AP opt. (U/l)	K	162 $\pm$ 69	149 $\pm$ 47	103 $\pm$ 15
	ND	134 $\pm$ 34	101 $\pm$ 32	101 $\pm$ 17
	MD	141 $\pm$ 50	93 $\pm$ 29	91 $\pm$ 13
	HD	122 $\pm$ 29	71 $\pm$ 34	84 $\pm$ 20
Bili- rubin (μ mol/l)	K	2,15 $\pm$ 1,20	2,63 $\pm$ 0,98	2,08 $\pm$ 0,28
	ND	2,77 $\pm$ 0,33	3,11 $\pm$ 0,37	2,56 $\pm$ 0,49
	MD	3,66 $\pm$ 1,71	3,38 $\pm$ 0,82	2,25 $\pm$ 0,33
	HD	2,70 $\pm$ 0,90	3,25 $\pm$ 0,68	2,77 $\pm$ 0,74
Harn- stoff (mmol/l)	K	10,7 $\pm$ 1,47	9,4 $\pm$ 2,2	7,6 $\pm$ 1,67
	ND	11,1 $\pm$ 1,56	8,4 $\pm$ 1,86	7,7 $\pm$ 1,30
	MD	11,4 $\pm$ 4,10	10,9 $\pm$ 4,6	6,4 $\pm$ 0,50
	HD	12,3 $\pm$ 3,10	11,0 $\pm$ 4,00	6,4 $\pm$ 2,03
Na ⁺ (mmol/l)	K	136,6 $\pm$ 2,9	139,6 $\pm$ 1,5	140,6 $\pm$ 1,5
	ND	137,2 $\pm$ 2,6	139,2 $\pm$ 0,8	139,6 $\pm$ 1,7
	MD	132,8 $\pm$ 3,9	140,2 $\pm$ 0,8	135,8 $\pm$ 2,2
	HD	136,0 $\pm$ 6,0	142,2 $\pm$ 2,2	139,0 $\pm$ 3,7
K ⁺ (mmol/l)	K	6,3 $\pm$ 0,2	3,8 $\pm$ 0,4	5,2 $\pm$ 0,5
	ND	6,0 $\pm$ 0,9	4,1 $\pm$ 0,6	4,0 $\pm$ 0,4
	MD	6,1 $\pm$ 0,9	3,7 $\pm$ 1,2	4,9 $\pm$ 1,1
	HD	6,0 $\pm$ 0,8	4,1 $\pm$ 1,0	3,4 $\pm$ 0,5
Ca ⁺⁺ (mmol/l)	K	3,39 $\pm$ 0,12	2,68 $\pm$ 0,25	2,84 $\pm$ 0,34
	ND	3,45 $\pm$ 0,17	2,75 $\pm$ 0,41	2,88 $\pm$ 0,16
	MD	3,28 $\pm$ 0,29	2,58 $\pm$ 0,28	2,79 $\pm$ 0,22
	HD	3,14 $\pm$ 0,17	2,80 $\pm$ 0,16	2,71 $\pm$ 0,11
T ₃ (ng/ml)	K	0,65 $\pm$ 0,062	0,44 $\pm$ 0,036	0,67 $\pm$ 0,029
	ND	0,65 $\pm$ 0,052	0,37 $\pm$ 0,060	0,61 $\pm$ 0,027
	MD	0,74 $\pm$ 0,079	0,41 $\pm$ 0,029	0,68 $\pm$ 0,036
	HD	0,65 $\pm$ 0,059	0,42 $\pm$ 0,049	0,57 $\pm$ 0,120
T ₄ (μ g/dl)	K	1,84 $\pm$ 0,055	1,88 $\pm$ 0,084	2,50 $\pm$ 0,300
	ND	2,04 $\pm$ 0,207	2,00 $\pm$ 0,255	2,68 $\pm$ 0,349
	MD	1,96 $\pm$ 0,167	2,02 $\pm$ 0,130	2,68 $\pm$ 0,286
	HD	2,02 $\pm$ 0,164	1,91 $\pm$ 0,181	2,50 $\pm$ 0,294
TBK	K	0,71 $\pm$ 0,030	0,67 $\pm$ 0,024	0,53 $\pm$ 0,127
	ND	0,71 $\pm$ 0,049	0,70 $\pm$ 0,057	0,58 $\pm$ 0,105
	MD	0,71 $\pm$ 0,032	0,70 $\pm$ 0,090	0,57 $\pm$ 0,041
	HD	0,64 $\pm$ 0,266	0,66 $\pm$ 0,056	0,60 $\pm$ 0,088
FT ₄ -Index	K	2,59 $\pm$ 0,10	2,83 $\pm$ 0,20	5,11 $\pm$ 2,26
	ND	2,89 $\pm$ 0,43	2,89 $\pm$ 0,60	4,83 $\pm$ 1,42
	MD	2,77 $\pm$ 0,36	2,95 $\pm$ 0,49	4,72 $\pm$ 0,70
	HD	4,36 $\pm$ 3,77	2,92 $\pm$ 0,58	4,31 $\pm$ 1,00

Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der klinischen Chemie bei dermalen Applikation des Präparates. Alle Werte sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus einer Gruppe von 5 Tieren.

K : Kontrolle; ND : niedere Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.

Weitere Abkürzungen sind im Text erklärt.

stanz und den gefundenen Werten ist nicht erkennbar. Dies gilt auch für die Resultate der mikroskopischen Untersuchung.

In der 4. Woche ist eine dosisunabhängige Abnahme des spezifischen Gewichtes des Urins festzustellen.

4.1.1.8. Verlauf der Jodkonzentration in Blut, Urin und Kot

Wie aus Abb. 5 hervorgeht, hat die Jodkonzentration im Blut im Falle der hohen Dosis ihr Maximum bereits nach einer Woche erreicht, um dann abzufallen.

Während die Kontrollwerte nicht, und die Werte der mittleren Dosis im Verlaufe des Versuches kaum ansteigen, zeigt sich bei der niederen Dosis in der 4. Woche ein beachtlicher Anstieg.

Auch im Harn der Kontrolltiere kommt es nach 4 Wochen zu einem deutlichen Jod-Anstieg.

Ansonsten ist, wie beim Kot, ein dosisabhängiger, kontinuierlicher Anstieg des Jodgehaltes zum Versuchsende hin festzustellen.

Wie ferner aus der Graphik ersichtlich wird, wird der größte Teil des Jods über die Nieren ausgeschieden.

4.1.1.9. Sektionsergebnisse

Bei zwei Kontrolltieren sowie einem Tier der mittleren Dosisgruppe wurden stecknadel- bis hirsekorngroße, weiße Flecken auf der Leber beobachtet.

Ferner wurde bei einem Tier der niederen Dosisgruppe eine Pyometra festgestellt.

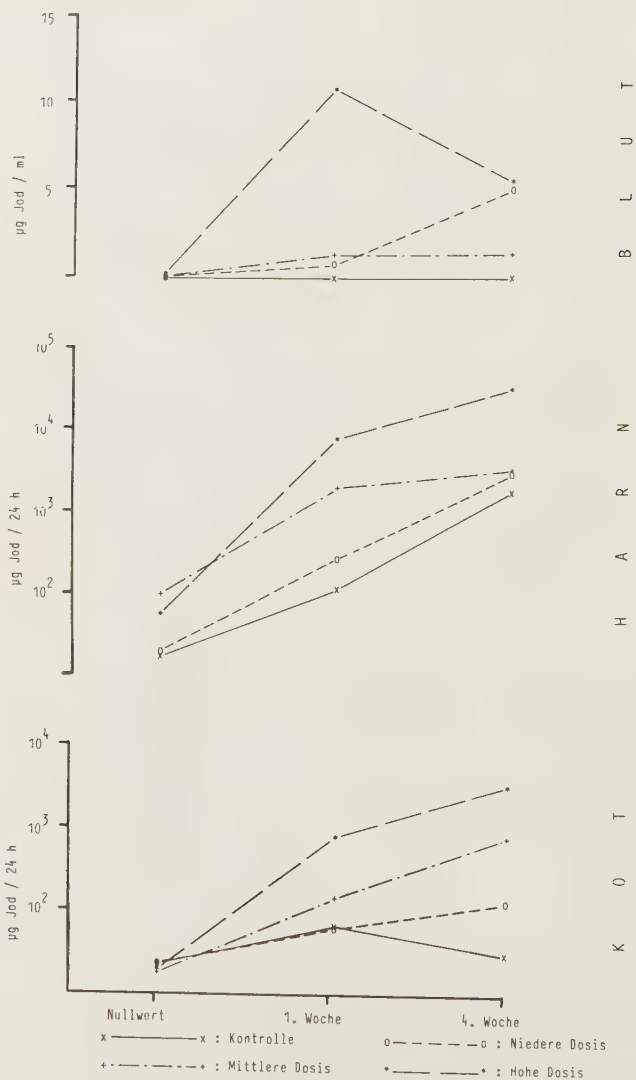
Bei je einem Tier aus der Kontrollgruppe sowie der Gruppe der mittleren Dosis erschien die Leber zirrhotisch verändert.

Bei drei Tieren der niederen Dosisgruppe konnte eine Ver-

Versuchs- zeit	Tier-Nr.	Chemische Untersuchung					Mikroskopische Untersuchung								
		pH	Dichte	NO ₂	Eiweiß	Glukose	Keton- körper	Urobili- nogen	Billi- rubin	Blut E/μl	Tripel- phosphat	Ca-Mono- hydrogen- carbonat	Ca-Carbo- nat	Ca-Phos- phat	Sonstiges
Nullwert	K 1	8,8	1,0421	-	0,3	n	-	n	-	-	+++	+++	-	+	
	K 6	7,4	1,0483	-	0,3	n	+	1	-	-	+++	+++	-	++	
	ND 11	9,0	1,0336	-	0,3	n	-	n	-	-	+++	+++	+	++	
	ND 16	8,9	1,0562	-	0,3	n	-	n	-	-	+++	+++	-	++	
	MD 21	9,3	1,0320	+	0,3	n	-	n	-	-	+	+++	-	++	Plattenepithel-Z
	MD 26	6,5	1,0187	-	-	n	-	4	-	-	+-	++	-	+++	
	HD 31	9,3	1,0274	+	0,3	n	-	n	-	-	-	++	-	++	
HD 36	9,3	1,0409	-	0,3	n	-	1	-	-	+	+++	-	+++		
1. Woche	K 1	9,8	1,0480	-	1	n	+	1	-	-	+++	+++	-	-	Leucin-Kristalle
	K 6	9,4	1,0564	+	1	n	+	4	+	-	++	+++	-	+	
	ND 11	7,3	1,0358	+	0,3	n	+	4	+	250	+++	+/	-	++	
	ND 16	9,5	1,0447	+	0,3	n	+	8	-	250	+	++	-	+++	
	MD 21	7,2	1,0424	+	0,3	n	+	4	-	250	+++	+	-	+-	
	MD 26	9,1	1,0522	-	1	n	+	4	-	-	++	++	-	++	
	HD 31	9,7	1,0710	-	1	n	+	4	-	-	+	++	+++	-	++
HD 36	9,6	1,0781	+	1	n	+	4	-	-	+	++	-	+++		
4. Woche	K 1	9,5	1,0399	-	0,3	n	-	n	-	-	+	+++	-	+	
	K 6	8,5	1,0065	+	-	n	-	n	-	-	+/	++	-	+-	
	ND 11	9,5	1,0177	+	-	n	-	n	-	-	+	+++	-	+++	
	ND 16	8,7	1,0082	+	-	n	-	n	-	-	-	++	-	-	
	MD 21	9,6	1,0341	+	0,3	n	-	1	-	-	++	+++	-	+	
	MD 26	9,3	1,0104	+	0,3	n	-	n	-	-	-	++	-	++	
	HD 31	9,1	1,0105	+	-	n	-	n	-	-	-	+/	-	++	
HD 36	9,6	1,0439	+	0,3	n	-	1	-	-	-	++	-	+++		

Übersicht über die Ergebnisse der Urin-Untersuchungen nach dermalen Applikation des Präparates. Aufgeführt sind jeweils zwei Tiere der Kontroll- und Dosisgruppen.
K : Kontrolle; ND : niedere Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.

ABBILDUNG 5



Verlauf der Jodkonzentration in Blut, Urin und Kot bei dermalen Applikation des Präparates.
Im Falle des Blutes stellen die Werte der Graphik Mittelwerte aus 5 Einzelwerten, im Falle von Urin und Kot Mittelwerte aus zwei Einzelwerten dar.

mehrung und rötliche Verfärbung der Peritonealflüssigkeit festgestellt werden.

Die in Abb. 6 dargestellten relativen Organgewichte weisen keine Veränderungen auf, die auf eine Beteiligung der Prüfsubstanz hindeuten.

4.1.1.10. Ergebnisse der pathologisch-histologischen Untersuchung

Bei fast allen untersuchten Tieren fiel in der Lunge eine Vermehrung lymphoider Zellen, vor allem im peribronchialen Bereich, auf. Ein Bezug zwischen applizierter Dosis und Grad der Veränderungen war nicht erkennbar.

Auch in der Leber waren bei einer großen Zahl der Tiere entzündliche Zellinfiltrate festzustellen, ohne daß jedoch ein Bezug zur Dosis gegeben war.

In einem Fall der hohen Dosisgruppe wurden Markophagen festgestellt, die mit einem braunen Pigment gefüllt waren.

Alle übrigen Organproben waren histologisch unauffällig.

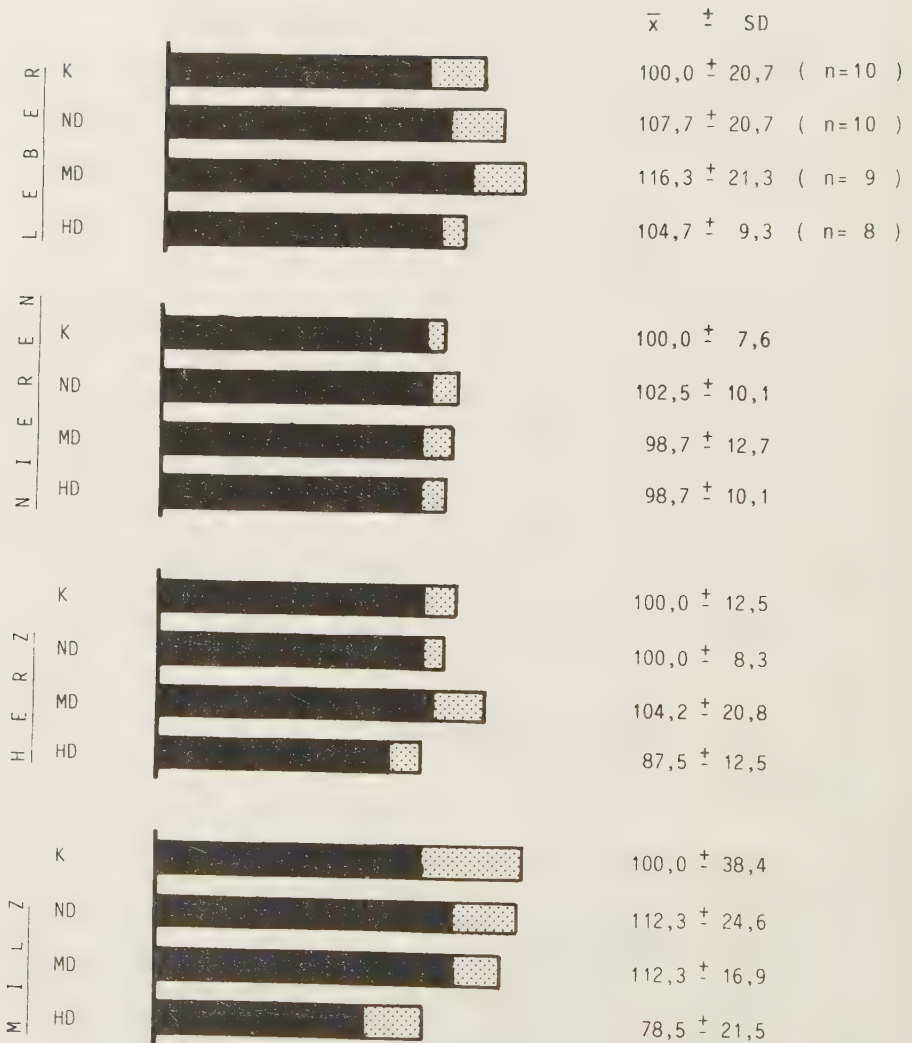
4.1.2. Intramuskuläre Applikation

4.1.2.1. Futtermverbrauch

Wie aus Abb. 7 hervorgeht, bewegt sich die Menge des aufgenommenen Futters bei allen drei Testgruppen in einem der Kontrollgruppe vergleichbaren Bereich.

Bei der hohen Dosisgruppe ist allerdings von der 3. zur 4. Woche hin eine starke Abnahme zu verzeichnen, die auch signifikant ist ($p < 0,1$). Kein signifikanter Unterschied besteht jedoch gegenüber dem entsprechenden Kontrollwert.

ABBILDUNG 6

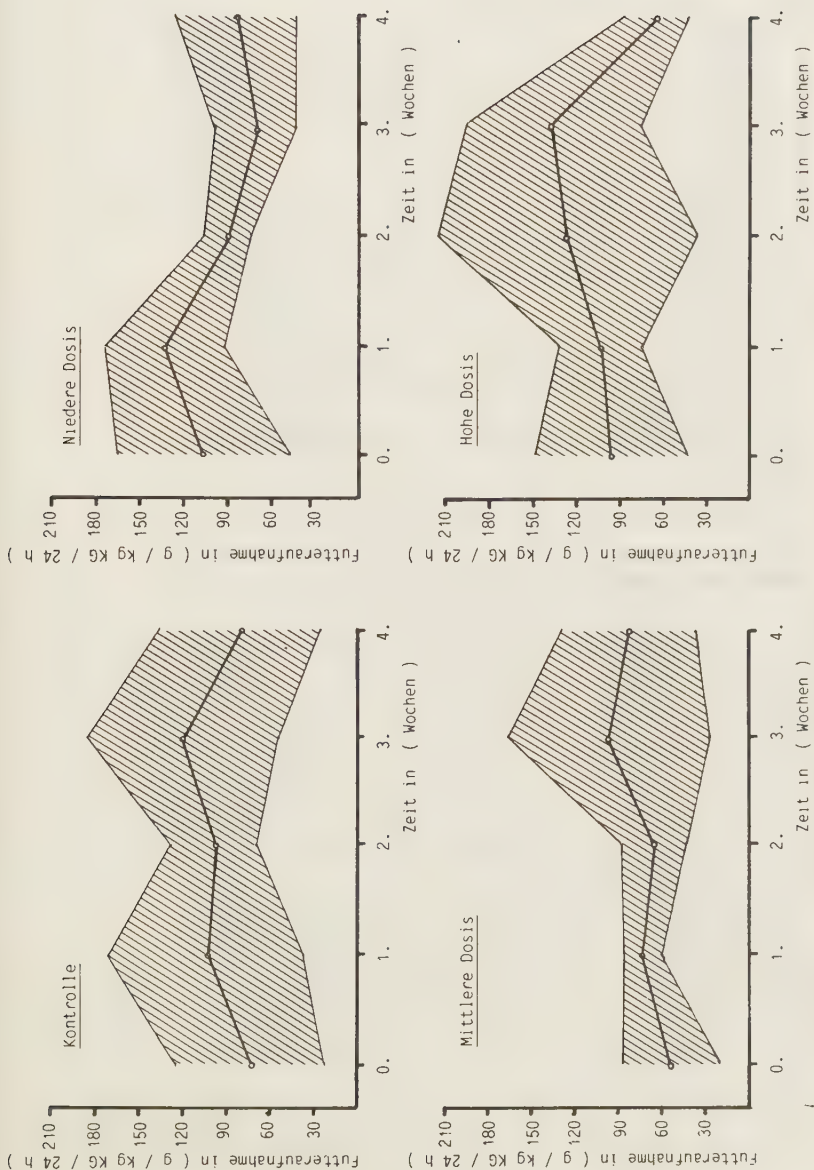


Relative Organgewichte der zu Versuchsende seziierten Tiere bezogen auf die relativen Organgewichte der Kontrollgruppe nach dermalen Applikation des Präparates.

Die Säulenhöhe stellt den Mittelwert der jeweiligen Dosisgruppe bezogen auf die Kontrolle (= 100,0 %) dar. Der gepunktete Bereich entspricht der positiven Standardabweichung.

K : Kontrolle; ND : niedere Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis; n : Anzahl der untersuchten Tiere.

ABBILDUNG 7



Verlauf der mittleren Futtermittelaufnahme bei Kontroll- sowie Dosisgruppen nach intramuskulärer Applikation des Präparates. Der schraffierte Bereich stellt die Standardabweichung dar. Die Gruppengröße lag zwischen 10 und 3 Tieren (s. a. Abb. 8).

4.1.2.2. Körpergewichtsentwicklung

Abb. 8 zeigt den zeitlichen Verlauf der auf das Ausgangsgewicht bezogenen prozentualen Körpergewichtszunahme bei den einzelnen Dosisgruppen sowie der Kontrolle.

Während bei Kontrolle und niederer Dosisgruppe eine leichte Zunahme zu verzeichnen war, bei der mittleren das Gewicht etwa gleich blieb, wies die hohe Dosisgruppe einen geringen Gewichtsverlust auf. Es scheint eine geringe Dosisabhängigkeit gegeben zu sein.

4.1.2.3. Ergebnisse der klinischen Untersuchung

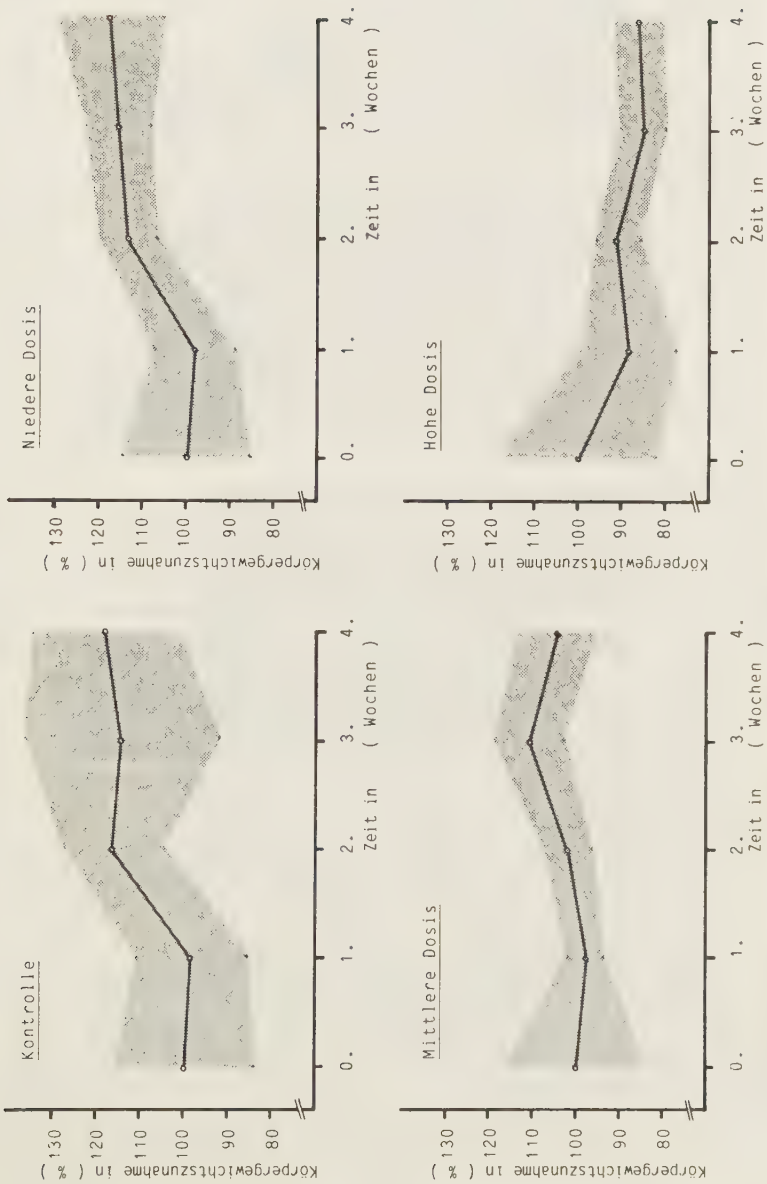
Auffallend war die große Zahl der Lähmungen der Hintergliedmaßen. Betroffen davon waren zwei Tiere der niederen, vier Tiere der mittleren und zwei Tiere der hohen Dosisgruppe.

Neben den Lähmungen waren in einem Fall bei der niederen Dosis ein bis zum Todestag anhaltender Durchfall und bei zwei weiteren Tieren derselben Dosisgruppe ein struppiges Fell beobachtet worden. Je ein Tier mit Durchfall fiel auch in der mittleren und hohen Dosisgruppe auf.

Mit dem Eintritt des Todes einhergehende Symptome konnten, sofern dieser nicht durch einen Applikationsfehler verursacht war, bei keiner der drei Applikationsarten beobachtet werden. Sämtliche, vorzeitig verstorbenen Tiere wurden morgens tot im Käfig aufgefunden.

Auffallende klinische Symptome wie Apathie, Krämpfe und ähnliches wurden bei den verstorbenen Tieren auch in den Tagen vor Eintritt des Todes nicht beobachtet.

ABBILDUNG 8



Verlauf der auf das Ausgangsgewicht bezogenen, mittleren prozentualen Körpergewichtszunahme bei Kontroll- sowie Dosisgruppen nach intramuskulärer Applikation des Präparates. Der gepunktete Bereich stellt die Standardabweichung dar. Die Gruppengröße lag zwischen 3 und 10 Tieren (s. a. Abb. 8).

4.1.2.4. Mortalitätsrate

Wie aus Abb. 9 zu ersehen, traten sowohl in Kontroll- wie auch in allen Dosisgruppen Todesfälle auf, wobei dies bei der hohen Dosis in verstärktem Maße geschah. Bei dieser Gruppe ist auch ein zeitlicher Einfluß auf die Mortalitätsrate erkennbar.

Die weiß gehaltenen Teile des Säulenhistogramms stehen für Tiere, die durch Applikationsfehler zu Tode kamen.

In einem Fall wurde dem Tier ein Teil des Präparates in die Niere, im anderen Fall in die Lunge appliziert. Beide Applikationsfehler waren auf unvorhersehbare Abwehrbewegungen der Tiere zurückzuführen.

4.1.2.5. Hämatologie

Erythrozyten-, Hämoglobin- und Hämatokritwerte zeigen keine zeit- und dosisabhängigen Veränderungen.

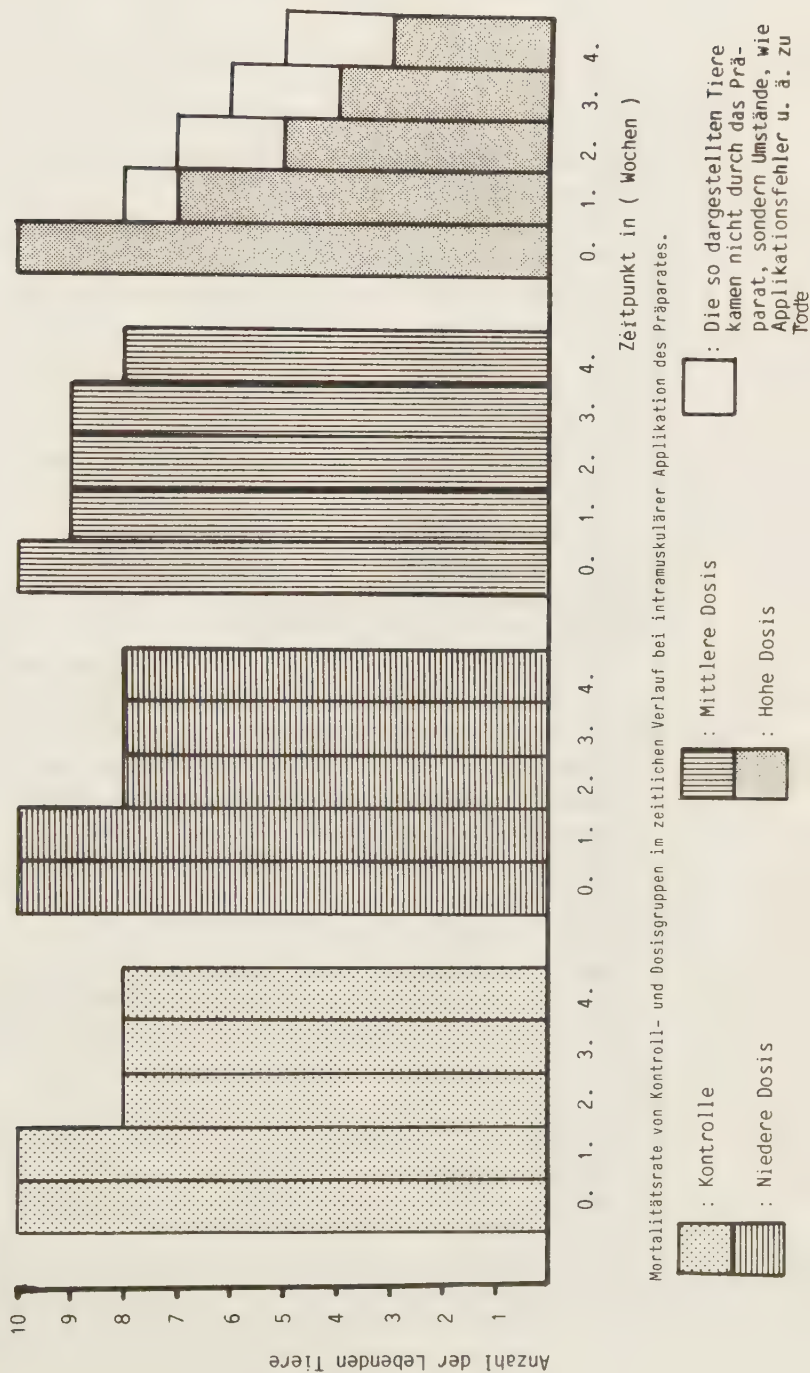
Im Falle der Leukozyten ist zwar bei allen Gruppen zur 4. Woche hin ein deutlicher Anstieg der Mittelwerte gegeben, aufgrund der großen individuellen Schwankungen konnte jedoch nur bei einem Teil eine geringe Signifikanz der Unterschiede festgestellt werden.

Außer bei der hohen Dosisgruppe ($p < 0,05$) sind auch die Unterschiede bei den Thrombozyten nicht signifikant.

Die Retikulozyten weisen zur 4. Woche hin bei allen Gruppen einen signifikanten Anstieg auf ($p < 0,1$), der auch eine Dosisabhängigkeit zeigt.

Beim Differentialblutbild fällt der bei allen Gruppen zu beobachtende Anstieg der segmentkernigen Granulozyten auf. Zum anderen ist bei allen Gruppen, die das Prüfpräparat erhielten, ein vermehrtes Auftreten von eosinophilen Granulozyten zu verzeichnen.

ABBILDUNG 9



Die Zeiten des Quick-Testes weisen keine zeit- und dosisabhängigen Veränderungen auf.

Die Blutungszeit zeigt bei allen Gruppen nach 4 Wochen eine dosisunabhängige Abnahme.

In Tabelle V sind die Werte der Hämatologie im Einzelnen aufgeführt.

4.1.2.6. Klinische Chemie des Blutes

Tabelle VI zeigt die Ergebnisse der klinischen Chemie in einer Übersicht.

Die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) weist bei allen Gruppen, die die Testsubstanz erhalten haben, eine signifikante Zunahme im Verlaufe des Versuches auf ($p < 0,01$), die auch eine Dosisabhängigkeit zeigt.

Bei der Creatin-Kinase (CK) ist bei allen Gruppen eine deutliche Zunahme im Verlaufe des Versuches festzustellen, die gleichfalls eine Dosisabhängigkeit zeigt. Während diese Dosisabhängigkeit nach einer Woche hochsignifikant ist ($p < 0,05$), ist nach 4 Wochen, aufgrund großer individueller Schwankungen, diese Signifikanz nicht mehr gegeben.

Die Alkalische Phosphatase (AP) weist bei allen Gruppen, die die Prüfsubstanz erhalten haben, eine signifikante Abnahme auf ($p < 0,05$).

Während Bilrubin keine dosis- und zeitabhängigen Veränderungen erkennen läßt, zeigt sich beim Harnstoff, wie auch schon bei der dermalen Applikation, eine signifikante Abnahme ($p < 0,01$), wobei auch eine Dosisabhängigkeit gegeben zu sein scheint.

Die gemessenen Elektrolyte Na^+ und K^+ lassen keine Veränderungen erkennen.

Ca^{++} zeigt eine hochsignifikante zeitliche ($p < 0,025$)

TABELLE V

Parameter	Dosisgruppe	Nullwert	1. Woche	4. Woche
Erythrozyten (10 ⁶ /µl)	K	4,50 ± 0,6	6,20 ± 1,0	4,90 ± 0,9
	ND	3,90 ± 1,1*	4,50 ± 0,8	4,30 ± 0,4
	MD	3,80 ± 1,8*	5,20 ± 0,3	4,30 ± 0,6*
	HD	4,80 ± 1,3*	4,90 ± 0,4	5,50 ± 1,8**
Hämoglobin (g/100 ml)	K	10,2 ± 1,0	13,2 ± 1,9	10,6 ± 1,6
	ND	8,7 ± 2,1*	10,3 ± 2,0	9,3 ± 0,4
	MD	8,6 ± 3,9*	11,0 ± 0,4	8,4 ± 1,1*
	HD	10,8 ± 2,2*	10,8 ± 1,1	11,0 ± 3,0**
Hämatokrit (%)	K	31,0 ± 4,0	38,0 ± 6,0	34,3 ± 6,0
	ND	28,0 ± 7,0*	36,0 ± 8,0	32,1 ± 2,0
	MD	26,0 ± 9,0*	36,0 ± 2,0	27,4 ± 5,2
	HD	33,0 ± 7,0*	40,0 ± 2,0	31,4 ± 4,8**
Leukozyten (10 ⁶ /µl)	K	4,6 ± 1,3	7,8 ± 1,7	7,1 ± 2,0
	ND	3,4 ± 1,4*	3,7 ± 0,9	7,2 ± 3,0
	MD	4,4 ± 1,9**	4,9 ± 0,9	7,3 ± 5,0*
	HD	4,1 ± 1,9*	5,2 ± 1,8	7,5 ± 0,5**
Thrombozyten (10 ⁶ /µl)	K	134 ± 14,0	127 ± 16,7	153 ± 16,1
	ND	101 ± 17,0*	128 ± 24,1	133 ± 15,4
	MD	153 ± 43,0**	149 ± 30,6	160 ± 24,6
	HD	136 ± 15,0*	165 ± 17,3	190 ± 13,6**
Retikulozyten (%)	K	14,0 ± 4,0	27,6 ± 11,9	26,6 ± 13,3
	ND	33,0 ± 36,0*	48,4 ± 24,8	47,0 ± 22,6
	MD	29,0 ± 8,0*	38,1 ± 7,4	38,6 ± 11,0
	HD	28,0 ± 9,0*	56,6 ± 13,3	78,5 ± 25,2**
Basophile (%)	K	0,6 ± 0,6	0,6 ± 0,6	0,2 ± 0,5
	ND	0,0*	0,2 ± 0,5	0,8 ± 0,5
	MD	0,0**	0,0	0,2 ± 0,5
	HD	0,0*	0,2 ± 0,5	0,3 ± 0,6**
Eosinophile (%)	K	1,6 ± 0,9	2,8 ± 2,9	1,8 ± 1,3
	ND	2,0 ± 1,2*	2,4 ± 2,1	4,0 ± 1,9
	MD	1,3 ± 1,5**	1,6 ± 1,7	3,4 ± 2,2
	HD	1,5 ± 1,3*	0,8 ± 0,4	3,3 ± 1,2**
Segmentkernige (%)	K	23,0 ± 7,3	24,0 ± 4,2	33,2 ± 9,9
	ND	24,0 ± 2,5*	31,0 ± 9,8	33,2 ± 13,3
	MD	20,0 ± 3,6**	24,4 ± 6,3	25,6 ± 4,0
	HD	22,3 ± 5,1*	25,6 ± 6,0	25,3 ± 3,2
Stabkernige (%)	K	0,0	0,0	0,4 ± 0,6
	ND	0,0*	0,4 ± 0,6	0,6 ± 0,8
	MD	0,0**	0,0	0,2 ± 0,5
	HD	0,3 ± 0,5*	0,0	0,3 ± 0,6**
Lymphozyten (%)	K	74,8 ± 8,1	72,6 ± 4,5	63,4 ± 10,6
	ND	73,5 ± 2,1*	65,8 ± 10,9	61,0 ± 13,4
	MD	78,0 ± 2,6**	73,8 ± 7,4	70,0 ± 4,2
	HD	75,5 ± 4,0*	73,2 ± 6,6	70,7 ± 1,5**
Monozyten (%)	K	0,0	0,0	0,6 ± 0,9
	ND	0,0*	0,2 ± 0,5	0,4 ± 0,9
	MD	0,7 ± 0,6**	0,2 ± 0,5	0,6 ± 0,9
	HD	0,8 ± 1,0*	0,2 ± 0,5	0,0**
Quick (sec)	K	22,1 ± 2,3	19,7 ± 2,2	18,3 ± 6,5
	ND	22,0 ± 2,0	16,3 ± 6,7	18,2 ± 1,0
	MD	21,5 ± 1,5	17,3 ± 6,9	18,8 ± 3,7
	HD	19,6 ± 3,8	20,0 ± 3,7	20,2 ± 1,0**
Blutungszeit (sec)	K	20,0 ± 5,0	11,0 ± 2,2	13,0 ± 2,7
	ND	19,0 ± 6,5	10,0 ± 0,0	12,0 ± 5,0
	MD	19,0 ± 8,2	11,0 ± 2,2	5,0 ± 0,0
	HD	24,0 ± 5,0	13,0 ± 9,7	8,5 ± 3,0

Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der hämatologischen Werte bei intramuskulärer Applikation des Präparates. Alle nicht extra gekennzeichneten Werte sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus einer Gruppe von 5 Tieren; bei Werten mit * sind es 4, bei Werten mit ** sind es 3 Tiere.

K : Kontrolle; ND : niedere Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.

sowie dosisabhängige ($p < 0,025$) Abnahme.

Trijodthyronin (T_3) weist bei allen Gruppen nach einer Woche eine deutliche Abnahme ($p < 0,025$) auf, wobei die Werte in der 4. Woche allerdings wieder etwas ansteigen, ohne jedoch die Nullwerte wieder zu erreichen. Eine Ausnahme bildet der 4-Wochen-Wert der hohen Dosisgruppe. Er übersteigt sogar den Nullwert.

Thyroxin (T_4) zeigt bei der mittleren und hohen Dosis schon nach einer Woche eine signifikante Zunahme ($p < 0,005$), die nach 4 Wochen noch deutlicher ist ($p < 0,025$).

Eine Dosisabhängigkeit ist bei diesen beiden Gruppen gegenüber der Kontrolle ebenfalls gegeben ($p < 0,05$).

Bei der Thyroxinbindungskapazität (TBK) ist bei den selben Gruppen eine entsprechende zeit- und dosisabhängige Veränderung der Werte, in Form einer Abnahme, festzustellen.

Der FT_4 -Index, der sich aus dem Verhältnis von T_4 zu TBK ergibt, zeigt demzufolge ebenfalls eine zeit- und dosisabhängige Zunahme.

4.1.2.7. Ergebnisse der Harnuntersuchung

Bei allen Gruppen ist in der 4. Woche eine Abnahme des spezifischen Gewichtes festzustellen.

Auch fällt der gegenüber Null- und 1-Wochen-Wert erhöhte Gehalt an Nitrit bei allen Gruppen in der 4. Woche auf.

Wie Tabelle VII ferner zeigt, treten bei allen Gruppen des öfteren erhöhte Eiweißwerte auf.

Vereinzelte wurden auch Ketonkörper, Erythrozyten und Bilirubin im Harn gefunden, ohne daß allerdings ein zeitlicher oder dosisabhängiger Bezug hergestellt werden konnte.

TABELLE VI

Parameter	Dosisgruppe	Nullwert	1. Woche	4. Woche
GOT opt. (ASAT) (U/l)	K	9,0 $\pm$ 2,8	7,3 $\pm$ 1,9	13,9 $\pm$ 4,2*
	ND	10,5 $\pm$ 3,2	9,4 $\pm$ 2,8	13,1 $\pm$ 2,9
	MD	15,9 $\pm$ 1,8	13,3 $\pm$ 4,3	23,8 $\pm$ 4,7
	HD	14,6 $\pm$ 4,3	15,2 $\pm$ 4,4	36,0 $\pm$ 17,6**
CK (NAC akt.) (U/l)	K	302 $\pm$ 179	142 $\pm$ 48	634 $\pm$ 642
	ND	169 $\pm$ 97	501 $\pm$ 399	1110 $\pm$ 978
	MD	183 $\pm$ 55	652 $\pm$ 326	1334 $\pm$ 1536
	HD	360 $\pm$ 280	488 $\pm$ 353	2286 $\pm$ 1817**
AP opt. (U/l)	K	117 $\pm$ 17	136 $\pm$ 41	101 $\pm$ 34
	ND	83 $\pm$ 23	80 $\pm$ 27	55 $\pm$ 13
	MD	116 $\pm$ 19	75 $\pm$ 13	32 $\pm$ 21
	HD	127 $\pm$ 10	71 $\pm$ 20	48 $\pm$ 6**
Bili- rubin (μ mol/l)	K	3,50 $\pm$ 1,97	3,32 $\pm$ 1,18	2,16 $\pm$ 0,64
	ND	2,64 $\pm$ 0,64	3,09 $\pm$ 0,38	3,28 $\pm$ 1,21
	MD	2,77 $\pm$ 0,65	3,28 $\pm$ 0,94	3,80 $\pm$ 1,72
	HD	2,10 $\pm$ 0,90	3,18 $\pm$ 0,64	1,88 $\pm$ 0,29**
Harn- stoff (mmol/l)	K	12,0 $\pm$ 4,1	9,6 $\pm$ 1,8	9,6 $\pm$ 2,8
	ND	8,9 $\pm$ 1,0	10,2 $\pm$ 3,8	6,4 $\pm$ 3,7
	MD	9,8 $\pm$ 1,3	9,0 $\pm$ 2,1	5,7 $\pm$ 2,0
	HD	8,8 $\pm$ 0,9	8,8 $\pm$ 2,7	4,7 $\pm$ 1,5**
Na ⁺ (mmol/l)	K	143,4 $\pm$ 8,6	138,4 $\pm$ 3,4	140,2 $\pm$ 3,1
	ND	138,6 $\pm$ 4,8	137,4 $\pm$ 3,2	140,6 $\pm$ 1,8
	MD	138,8 $\pm$ 1,3	136,2 $\pm$ 0,5	141,8 $\pm$ 3,0
	HD	136,4 $\pm$ 1,7	138,2 $\pm$ 1,8	142,3 $\pm$ 1,5**
K ⁺ (mmol/l)	K	5,4 $\pm$ 0,7	4,4 $\pm$ 0,5	5,4 $\pm$ 0,7
	ND	6,4 $\pm$ 1,6	4,6 $\pm$ 0,3	3,7 $\pm$ 0,6
	MD	6,2 $\pm$ 0,2	4,0 $\pm$ 0,4	6,5 $\pm$ 1,0
	HD	6,4 $\pm$ 0,4	4,2 $\pm$ 0,4	6,8 $\pm$ 0,8**
Ca ⁺⁺ (mmol/l)	K	3,72 $\pm$ 0,19	3,30 $\pm$ 0,24	3,00 $\pm$ 0,21
	ND	3,49 $\pm$ 0,22	3,31 $\pm$ 0,30	2,57 $\pm$ 0,18
	MD	3,52 $\pm$ 0,21	2,93 $\pm$ 0,18	2,53 $\pm$ 0,21
	HD	3,54 $\pm$ 0,20	3,03 $\pm$ 0,04	2,37 $\pm$ 0,03**
T ₃ (ng/ml)	K	0,70 $\pm$ 0,083	0,42 $\pm$ 0,031	0,58 $\pm$ 0,037
	ND	0,70 $\pm$ 0,062	0,40 $\pm$ 0,031	0,55 $\pm$ 0,037
	MD	0,72 $\pm$ 0,056	0,39 $\pm$ 0,070	0,48 $\pm$ 0,112
	HD	0,66 $\pm$ 0,069	0,58 $\pm$ 0,189	0,92 $\pm$ 0,440**
T ₄ (μ l/dl)	K	2,26 $\pm$ 0,288	2,14 $\pm$ 0,230	2,78 $\pm$ 0,430
	ND	2,06 $\pm$ 0,195	1,92 $\pm$ 0,190	2,70 $\pm$ 0,234
	MD	2,28 $\pm$ 0,148	3,50 $\pm$ 0,540	3,66 $\pm$ 0,580
	HD	2,06 $\pm$ 0,182	4,70 $\pm$ 1,510	8,70 $\pm$ 3,180**
TBK	K	0,63 $\pm$ 0,039	0,64 $\pm$ 0,047	0,60 $\pm$ 0,118
	ND	0,63 $\pm$ 0,034	0,67 $\pm$ 0,090	0,60 $\pm$ 0,086
	MD	0,61 $\pm$ 0,028	0,48 $\pm$ 0,039	0,59 $\pm$ 0,113
	HD	0,65 $\pm$ 0,029	0,46 $\pm$ 0,091	0,36 $\pm$ 0,036**
FT ₄ -Index	K	3,59 $\pm$ 0,66	3,37 $\pm$ 0,55	4,97 $\pm$ 2,04
	ND	3,31 $\pm$ 0,46	2,93 $\pm$ 0,60	4,59 $\pm$ 1,08
	MD	3,74 $\pm$ 0,39	7,49 $\pm$ 1,78	6,51 $\pm$ 2,38
	HD	3,20 $\pm$ 0,34	11,26 $\pm$ 6,67	24,71 $\pm$ 11,15**

Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der klinischen Chemie bei intramuskulärer Applikation des Präparates. Alle nicht extra gekennzeichneten Werte sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus einer Gruppe von 5 Tieren; bei Werten mit * sind es 4, bei Werten mit ** sind es 3 Tiere.

K : Kontrolle; ND : niedere Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.

Weitere Abkürzungen werden im Text erklärt.

TABELLE VII

Versuchs-zeit	Tier-Nr.	Chemische Untersuchung					Mikroskopische Untersuchung					Ca-Phos- phat		Sonstiges
		pH	Dichte	NO ₂	Eiweiß	Glukose	Keton- körper	Urobili- nogen	Billi- rubin	Blut E/ul	Tripel- phosphat	Ca-Mono- hydrogen- carbonat	Ca-Carbo- nat	
Nullwert	K 1	9,4	1,0570	-	0,3	n	-	n	-	-	+	++	-	Tyrosin-Krist.
	K 6	9,1	1,0507	-	0,3	n	-	1	-	-	+	++	-	++
	ND 11	7,0	1,0312	+	0,3	n	-	n	-	-	+++	++	-	++
	ND 16	9,2	1,0466	-	0,3	n	-	n	-	-	-	++	-	++
	MD 21	8,7	1,0275	-	0,3	n	-	n	-	-	-	+/-	-	+++
	MD 26	8,7	1,0388	+	0,3	n	-	n	-	-	-	+/-	-	+++
	HD 31	9,2	1,0372	-	0,3	n	-	n	-	-	+	+++	-	+
	HD 36	9,4	1,0257	+	0,3	n	-	n	-	-	+/-	+/-	-	+
1. Woche	K 1	9,7	1,0941	-	1	n	+	1	++	50	+++	+/-	-	+
	K 6	9,4	1,0334	-	0,3	n	-	n	-	-	-	++	-	-
	ND 11	9,6	1,0688	-	1	n	-	1	+	-	-	++	-	-
	ND 16	9,7	1,0684	-	1	n	-	n	-	-	-	+/-	-	-
	MD 21	9,4	1,0564	+	1	n	+	n	-	-	++	++	++	+
	MD 26	9,1	1,0303	-	-	n	-	n	-	-	-	++	++	+
	HD 31	8,8	1,0207	-	0,3	n	-	n	-	10	-	+	-	+
	HD 36	9,2	1,0399	-	1	n	-	2	-	-	-	+/-	-	+++
4. Woche	K 1	6,3	1,0552	+	0,3	n	-	4	-	-	-	+/-	-	++
	K 6	7,7	1,0040	+	-	n	-	n	-	-	-	+/-	-	+++
	ND 11	9,4	1,0554	+	0,3	n	-	1	-	-	++	+++	-	+/-
	ND 16	8,2	1,0031	+	-	n	-	n	-	-	+/-	++	-	++
	MD 21	8,2	1,0056	+	0,3	n	-	n	-	-	-	++	-	++
	MD 27*	9,3	1,0231	+	1	n	-	n	-	5	+/-	++	-	÷
	HD 31	7,3	1,0018	+	0,3	n	-	n	-	-	-	+/-	+	+/-
	HD 36	8,2	1,0016	++	0,3	n	-	n	-	5	-	+/-	-	+++

Übersicht über die Ergebnisse der Urin-Untersuchung nach intramuskulärer Applikation des Präparates. Aufgeführt sind jeweils zwei Tiere aus Kontroll- und Dosisgruppen.

K : Kontrolle; MD : niedrige Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.

* : Urin konnte vom ursprünglichen Tier an diesem Tage nicht gewonnen werden.

4.1.2.8. Verlauf der Jodkonzentration in Blut, Urin und Kot

Wie Abb. 10 zeigt, weisen alle Gruppen, die die Prüfsubstanz appliziert bekamen, nach einer Woche ein dosisabhängiges Maximum des Jodgehaltes im Blut auf.

In der 4. Woche sind sämtliche Werte wieder stark abgesunken.

Bei Kot und Harn ist bis zur 1. Woche ein steiler Anstieg zu verzeichnen, der in abgeschwächter Form bis zur 4. Woche hin anhält.

Während im Falle des Urins die Dosisabhängigkeit voll gegeben ist, weist im Falle des Kotes die niedere Dosis nach einer Woche den höchsten Wert auf, was allerdings auf einen extrem hohen Einzelwert zurückzuführen ist.

4.1.2.9. Sektionsergebnisse

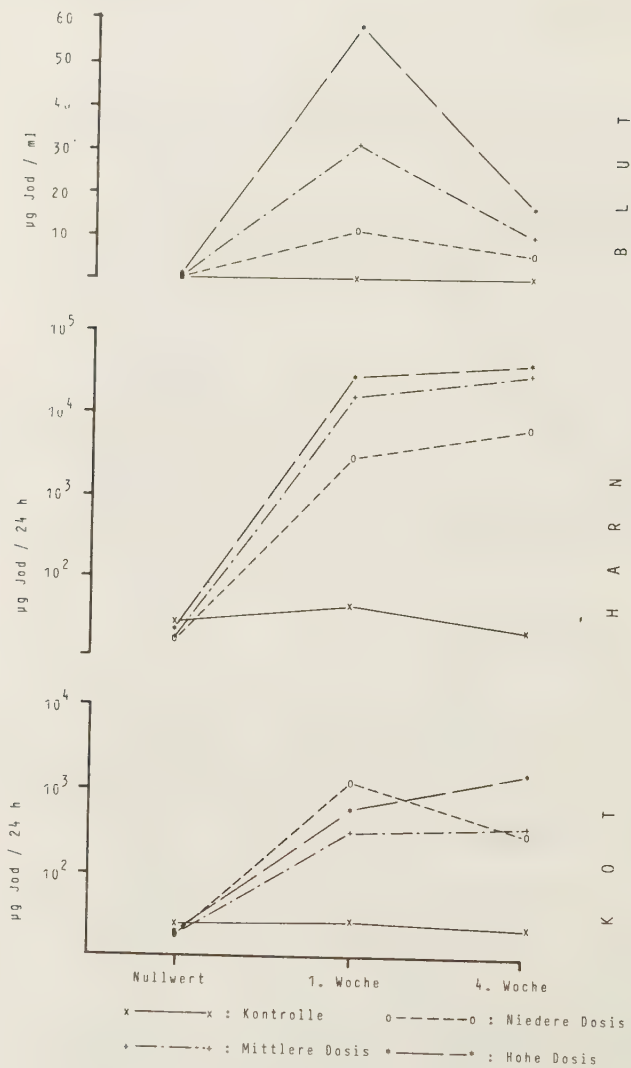
Auffallend war die große Zahl von Blutungen, Verwachsungen und Muskelnekrosen im Lumbalbereich. Diese Veränderungen waren bei zwei Tieren der niederen, sechs Tieren der mittleren und sechs Tieren der hohen Dosis zu beobachten. Dabei nahm der Grad der Veränderungen mit der Konzentration des Prüfpräparates zu.

Bei einem Tier der niederen, vier Tieren der mittleren und drei Tieren der hohen Dosisgruppe wies die Niere stecknadelkopfgroße, bräunlich-schwarze Flecken auf, wobei die Niere insgesamt hellgelb verfärbt erschien.

Die schon bei der Gruppe der oralen Applikation beschriebenen, stecknadel- bis hirsekorngroßen, weißen Flecken auf der Leber wurden ebenfalls bei allen Gruppen, die die Prüfsubstanz erhalten hatten, beobachtet.

Bei zwei Tieren der hohen Dosisgruppe fiel eine Verwachsung von Leber und Niere auf und in einem Fall wurde in dieser

ABBILDUNG 10



Verlauf der Jodkonzentration in Blut, Urin und Kot bei intramuskulärer Applikation des Präparates.
Im Falle des Blutes stellen die Werte der Graphik Mittelwerte aus 5 Einzelwerten, im Fall von Urin und Kot Mittelwerte aus zwei Einzelwerten dar.

Gruppe eine Vermehrung und rötliche Verfärbung der Bauchhöhlenflüssigkeit beobachtet.

Von den in Abb. 11 dargestellten relativen Organgewichten fällt neben der dosisabhängigen Zunahme des Herzgewichtes vor allem die bei allen Testgruppen feststellbare starke Zunahme des Milzgewichtes auf.

4.1.2.9. Ergebnisse der pathologisch-histologischen Untersuchung

Bei einem Großteil der Tiere wurden in der Lunge entzündliche Zellinfiltrate festgestellt, ohne daß jedoch ein Bezug zum Prüfpräparat zu erkennen gewesen wäre.

Die Leber wies ebenfalls bei den meisten Tieren die Erscheinungen chronischer Entzündungsprozesse auf.

Im Falle der Skelettmuskulatur wurden im Bereich der Injektionsstellen dystrophische und nekrotische Veränderungen festgestellt, die eindeutig mit dem zu prüfenden Präparat in Zusammenhang standen.

4.1.3. Orale Applikation

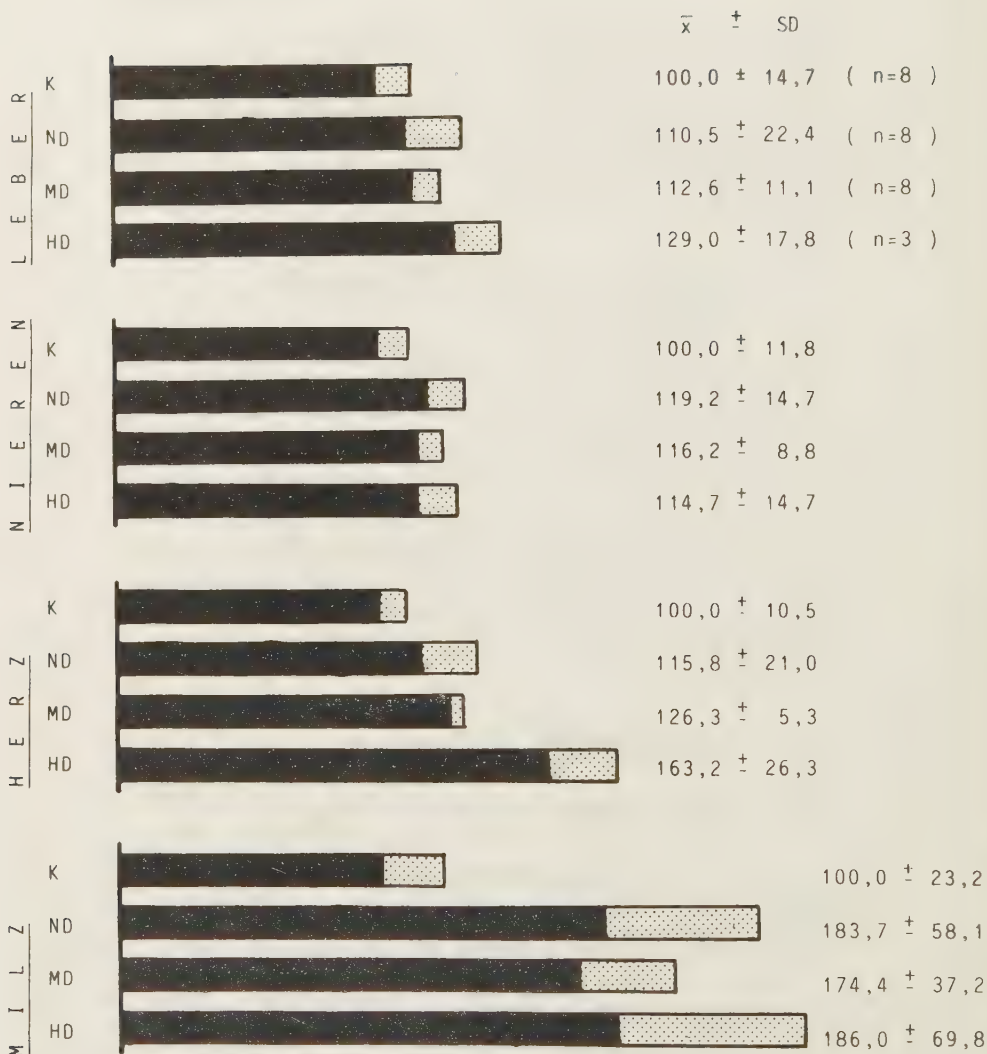
4.1.3.1. Futtermittelverbrauch

Wie Abb. 12 zeigt, ist bei allen Gruppen eine dosisunabhängige, leichte Zunahme des mittleren Futtermittelverbrauches im Verlaufe des Versuches zu verzeichnen.

4.1.3.2. Körpergewichtsentwicklung

Auch ist, wie Abb. 13 zeigt, eine dosisunabhängige Gewichtszunahme im Verlaufe des Versuches bei allen Gruppen

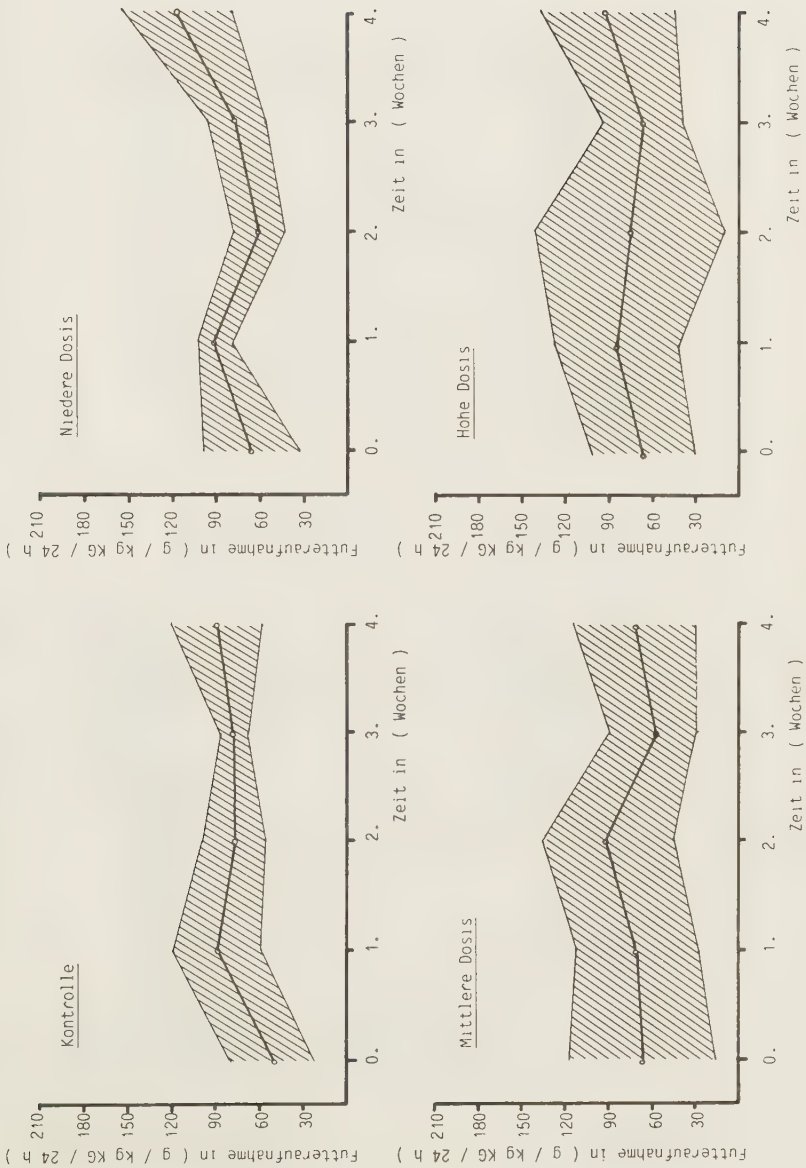
ABBILDUNG 11



Relative Organgewichte der zu Versuchsende seziierten Tiere bezogen auf die relativen Organgewichte der Kontrollgruppe nach intramuskulärer Applikation des Präparates. Die Säulenhöhe stellt den Mittelwert der jeweiligen Dosisgruppe bezogen auf die Kontrollgruppe (= 100,0 %) dar. Der gepunktete Bereich entspricht der positiven Standardabweichung.

K : Kontrolle; ND : niedere Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.
n : Anzahl der untersuchten Tiere.

ABBILDUNG 12



Verlauf der mittleren Futtermittelaufnahme bei Kontroll- und Dosisgruppen nach oraler Applikation des Präparates.
Der schraffierte Bereich stellt die Standardabweichung dar. Die Gruppengröße lag zwischen 6 und 10 Tieren (s. a. Abb. 13).

festzustellen.

4.1.3.3. Ergebnisse der klinischen Untersuchung

Bei vier Tieren der hohen Dosisgruppe fiel ein purulenter Nasenausfluß auf.

Ein weiteres Tier derselben Gruppe hatte eine Konjunktivitis. Die Erscheinungen verschwanden nach einigen Tagen wieder.

Ein Tier dieser Gruppe zeigte eine Lähmung beider Hintergliedmaßen, die bis zum Versuchsende anhielt.

Haarausfallserscheinungen waren bei je einem Tier der Kontroll- sowie hohen Dosisgruppe zu beobachten.

Ein Tier der mittleren Dosisgruppe hatte einen sechs Tage lang anhaltenden Durchfall.

4.1.3.4. Mortalitätsrate

Wie Abb. 14 zeigt, ist nur in drei Fällen der Tod der Tiere nicht durch Applikationsfehler bedingt gewesen.

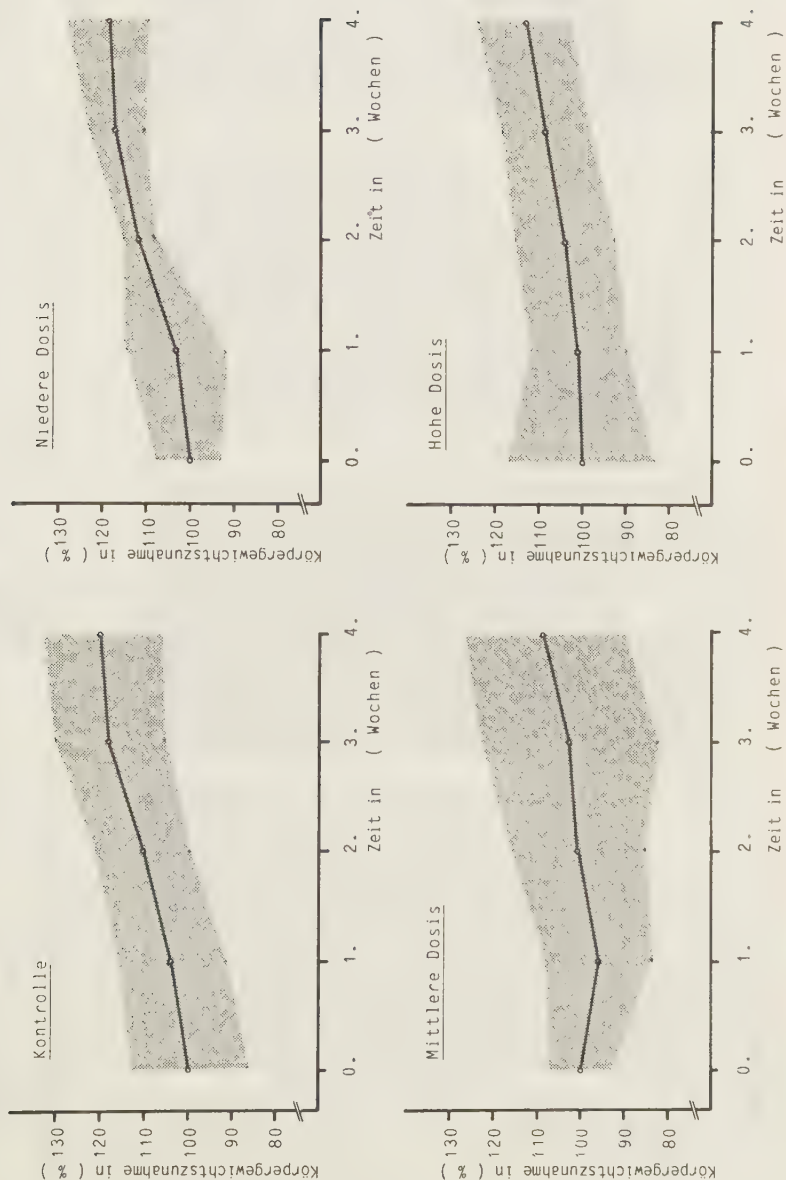
Im Einzelnen kamen diese applikationsbedingten Todesfälle durch eine Magenruptur, zwei Genickbrüche, die sich die Tiere beim Ergreifen im Käfig selbst zugefügt hatten, und einer Applikation des Präparates in die Lunge zustande.

Die nicht durch Fehler in der Applikation bedingten Todesfälle lassen keinen Bezug zur Dosis des Prüfpräparates erkennen.

4.1.3.5. Hämatologie

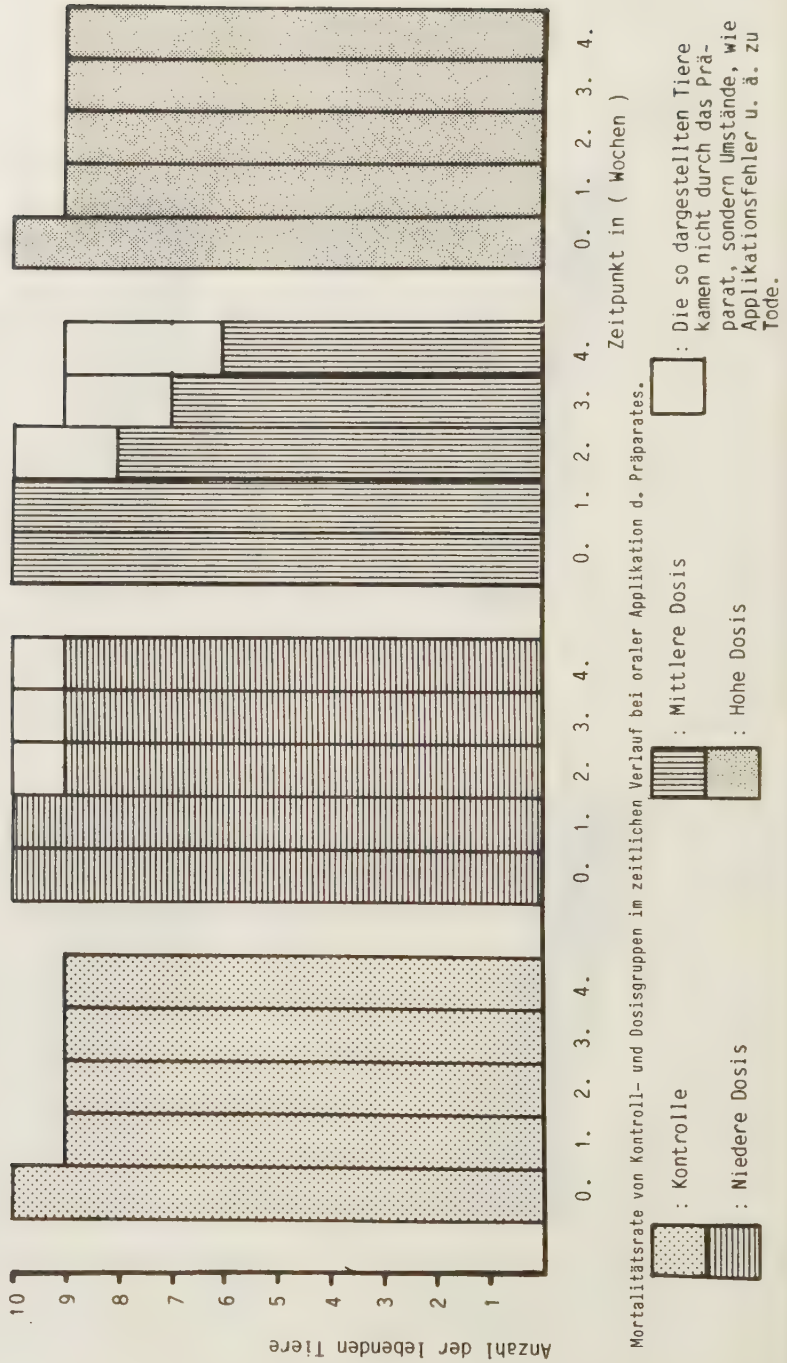
Wie Tabelle VIII zeigt, weisen Erythrozyten, Hämoglobin und Hämatokrit keine zeit- und dosisabhängigen Veränderungen

ABBILDUNG 13



Verlauf der auf das Ausgangsgewicht bezogenen, mittleren prozentualen Körpergewichtszunahme bei Kontroll- sowie Dosisgruppen nach oraler Applikation des Präparates. Der gepunktete Bereich stellt die Standardabweichung dar. Die Gruppengröße lag zwischen 6 und 10 Tieren (s.a. Abb. 13).

ABBILDUNG 14



auf.

Dasselbe gilt für Leuko-, Thrombo- und Retikulozyten.

Auch bei den zelligen Bestandteilen des Differentialblutbildes sind solche Veränderungen nicht festzustellen.

Die Zeiten des Quick-Testes zeigen ebenfalls keine zeit- und dosisabhängigen Veränderungen; die bei der Blutungszeit feststellbaren, vereinzelt auftretenden, veränderten Werte sind auf stark schwankende Einzelwerte zurückzuführen und lassen zudem weder eine Dosis- noch eine Zeitabhängigkeit erkennen.

4.1.3.6. Klinische Chemie des Blutes

Aus Tabelle IX, die eine Übersicht über die Ergebnisse der klinischen Chemie zeigt, geht hervor, daß weder bei der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) noch bei der Creatinkinase (CK) zeit- und dosisabhängige Veränderungen festzustellen sind.

Auch die bei der Alkalischen Phosphatase (AP) erkennbaren geringfügigen Abnahmen im zeitlichen Verlauf des Versuches stellten sich nur bei Kontrolle und mittlerer Dosisgruppe als signifikant ($p < 0,05$) heraus. Eine Dosisabhängigkeit ist nicht zu erkennen.

Keine signifikanten Veränderungen sind bei Bilirubin sowie den Elektrolyten Na^+ , K^+ und Ca^{++} festzustellen.

Während die Harnstoffwerte bei allen Gruppen in der 4. Woche eine signifikante Abnahme zeigen ($p < 0,1$), ist eine dosisabhängige, signifikante Abnahme nicht zu bemerken.

Trijodthyronin (T_3) weist bei allen Gruppen nach einer Woche ein Minimum auf. Diese Abnahme im Laufe der 1. Woche ist bei allen Gruppen signifikant ($p < 0,1$). Nach 4 Wochen ist dies nur noch bei der mittleren und hohen Dosisgruppe

TABELLE VIII

Parameter	Dosisgruppe	Nullwert	1. Woche	4. Woche
Erythrozyten (10 ⁶ /µl)	K	5,70 ± 1,1	5,80 ± 0,9	4,90 ± 0,7
	ND	5,00 ± 1,1	5,10 ± 0,9	5,20 ± 0,4
	MD	5,20 ± 1,4	5,40 ± 1,1	4,40 ± 0,7
	HD	4,80 ± 0,4	4,90 ± 0,3	4,90 ± 0,5
Hämoglobin (g/100 ml)	K	12,4 ± 2,1	12,7 ± 2,1	9,8 ± 1,5
	ND	11,2 ± 2,0	11,5 ± 2,0	11,1 ± 0,9
	MD	12,2 ± 3,1	12,9 ± 2,4	9,5 ± 1,5
	HD	10,8 ± 0,7	11,0 ± 0,7	10,0 ± 1,2
Hämatokrit (%)	K	35,1 ± 5,9	36,0 ± 2,6	34,1 ± 2,4
	ND	34,1 ± 6,8	35,6 ± 7,3	36,4 ± 1,5
	MD	35,6 ± 7,0	35,1 ± 1,9	31,5 ± 4,3
	HD	35,8 ± 1,4	33,2 ± 3,6	34,5 ± 4,4
Leukozyten (10 ³ /µl)	K	7,0 ± 0,7	7,0 ± 0,7	8,0 ± 2,0
	ND	6,7 ± 1,2	6,7 ± 1,0	6,2 ± 1,9
	MD	7,1 ± 2,2	6,9 ± 1,6	6,6 ± 1,3
	HD	8,4 ± 1,8	8,1 ± 1,6	7,3 ± 1,8
Thrombozyten (10 ³ /µl)	K	128 ± 28,5	133 ± 24,7	147 ± 17,0
	ND	122 ± 18,0	126 ± 12,7	130 ± 13,3
	MD	142 ± 35,6	142 ± 33,5	152 ± 23,2
	HD	117 ± 21,7	120 ± 20,2	137 ± 14,0
Retikulozyten (%)	K	20,4 ± 4,9	20,4 ± 5,1	16,1 ± 5,2
	ND	21,0 ± 6,7	22,0 ± 4,9	31,7 ± 8,2
	MD	21,6 ± 10,4	21,4 ± 7,8	24,0 ± 10,7
	HD	24,6 ± 7,8	24,2 ± 8,7	27,4 ± 5,5
Basophile (%)	K	0,6 ± 0,9	0,2 ± 0,5	0,4 ± 0,5
	ND	1,0 ± 1,4	0,8 ± 1,8	0,2 ± 0,5
	MD	0,2 ± 0,5	0,6 ± 0,9	0,0
	HD	0,0	0,2 ± 0,5	0,0
Eosinophile (%)	K	1,0 ± 0,7	1,4 ± 0,9	0,8 ± 0,8
	ND	2,0 ± 1,2	1,8 ± 1,5	1,6 ± 1,7
	MD	0,8 ± 1,3	1,4 ± 0,6	0,8 ± 0,8
	HD	3,0 ± 3,7	1,6 ± 2,5	1,8 ± 2,9
Segmentkernige (%)	K	24,6 ± 7,8	22,2 ± 3,8	24,8 ± 3,1
	ND	18,2 ± 7,4	29,0 ± 5,2	24,2 ± 7,2
	MD	22,4 ± 8,9	22,0 ± 7,2	24,2 ± 5,1
	HD	26,4 ± 6,6	25,6 ± 6,1	25,2 ± 3,1
Stabkernige (%)	K	0,0	0,0	0,0
	ND	0,0	0,0	0,0
	MD	0,2 ± 0,5	0,0	0,0
	HD	0,2 ± 0,5	0,0	0,0
Lymphozyten (%)	K	73,0 ± 7,8	75,8 ± 3,6	74,0 ± 3,8
	ND	78,8 ± 7,9	68,4 ± 4,2	74,0 ± 6,0
	MD	74,0 ± 8,9	75,8 ± 6,0	74,8 ± 4,4
	HD	69,8 ± 9,3	72,2 ± 8,8	71,0 ± 8,1
Monozyten (%)	K	0,8 ± 0,8	0,4 ± 0,5	0,0
	ND	0,0	0,0	0,0
	MD	0,6 ± 0,6	0,4 ± 0,9	0,2 ± 0,5
	HD	0,6 ± 0,6	0,4 ± 0,6	0,0
Quick (sec)	K	22,7 ± 1,5	20,3 ± 2,0	23,4 ± 3,1
	ND	20,7 ± 1,5	19,7 ± 1,5	21,8 ± 3,0
	MD	22,7 ± 1,3	21,6 ± 2,2	21,2 ± 2,5
	HD	18,7 ± 2,3	21,2 ± 3,6	20,5 ± 3,6
Blutungszeit (sec)	K	16,0 ± 5,5	17,0 ± 18,6	25,0 ± 7,9
	ND	12,0 ± 5,7	9,0 ± 2,2	12,0 ± 7,6
	MD	17,0 ± 4,5	12,0 ± 10,4	7,0 ± 2,7
	HD	15,0 ± 6,1	8,0 ± 2,7	18,0 ± 2,7

Übersicht über Mittelwerte und Standardabweichungen der hämatologischen Werte bei oraler Applikation des Präparates. Alle nicht extra gekennzeichneten Werte sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus einer Gruppe von 5 Tieren; bei Werten mit * sind es 4, bei Werten mit ** sind es 3 Tiere.

K : Kontrolle; ND : niedere Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.

gegeben ($p < 0,1$). Eine Dosisabhängigkeit ist allerdings nicht erkennbar.

Thyroxin (T_4) zeigt bei allen Gruppen nach einer Woche ein Maximum, wobei der Unterschied in allen Fällen signifikant ist ($p < 0,025$). In der 4. Woche sind in allen Fällen erhöhte Werte zu verzeichnen, ohne daß die Unterschiede zu den Nullwerten jedoch signifikant wären. Eine Dosisabhängigkeit ist nicht erkennbar.

Die Thyroxinbindungskapazität (TBK) weist weder zeit- noch dosisabhängige deutliche Veränderungen bei den einzelnen Gruppen auf.

Dasselbe gilt für den FT_4 -Index.

4.1.1.7. Ergebnisse der Harnuntersuchung

Wie die in Tabelle X dargestellte Übersicht zeigt, wurden im Urin der Tiere neben Nitrit auch Eiweiß und vereinzelt Ketonkörper sowie Urobilinogen nachgewiesen. Ein Bezug zur Dosis der applizierten Prüfsubstanz konnte allerdings nicht festgestellt werden.

Nach der 1. Woche wurden bei vier Tieren, nach der 4. Woche bei zwei Tieren Erythrozyten im Urin nachgewiesen, wobei jedoch auch diese Befunde nicht mit dem Prüfpräparat in Zusammenhang gebracht werden konnten.

4.1.3.8. Verlauf der Jodkonzentration in Blut, Urin und Kot

Diese verhält sich, wie aus Abb. 15 zu ersehen, recht ähnlich wie bei der intramuskulären Applikation (Abb. 10).

Die Dosisabhängigkeit zwischen niederer und mittlerer Dosisgruppe ist nach einer Woche nicht immer gegeben.

Deutlich ist auch hier nach einer Woche ein Maximum

TABELLE IX

Parameter	Dosisgruppe	Nullwert	1. Woche	4. Woche
GUT opt. (ASAT)	K	13,3 ± 3,3	9,9 ± 2,1	14,1 ± 9,3
(U/l)	ND	7,5 ± 2,0	11,4 ± 3,5	13,3 ± 3,4
	MD	13,9 ± 2,1	12,0 ± 4,2	12,4 ± 3,4
	HD	18,0 ± 2,5	14,8 ± 4,2	18,4 ± 5,3
CK (NAC akt.)	K	295 ± 147	141 ± 92	456 ± 653
(U/l)	ND	176 ± 83	263 ± 282	171 ± 66
	MD	130 ± 27	178 ± 119	206 ± 168
	HD	207 ± 162	163 ± 101	155 ± 44
AP opt. (U/l)	K	137 ± 23	121 ± 28	75 ± 31
	ND	117 ± 25	117 ± 41	90 ± 27
	MD	111 ± 25	106 ± 20	68 ± 30
	HD	147 ± 39	129 ± 63	112 ± 46
Billi- rubin (µmol/l)	K	3,22 ± 0,63	2,40 ± 0,53	2,97 ± 2,10
	ND	2,59 ± 0,59	2,36 ± 0,46	1,64 ± 0,62
	MD	2,91 ± 1,35	2,77 ± 1,28	2,94 ± 2,42
	HD	2,43 ± 0,78	1,91 ± 0,22	1,98 ± 0,39
Harn- stoff (mmol/l)	K	8,3 ± 0,69	8,8 ± 1,15	6,9 ± 1,23
	ND	10,3 ± 2,44	11,9 ± 6,02	8,1 ± 1,97
	MD	10,4 ± 1,40	9,9 ± 3,84	5,9 ± 0,78
	HD	7,2 ± 1,25	10,1 ± 6,84	5,6 ± 1,14
Na ⁺ (mmol/l)	K	139,0 ± 2,7	140,4 ± 1,1	139,8 ± 1,1
	ND	138,6 ± 2,1	139,4 ± 1,5	141,4 ± 1,5
	MD	141,2 ± 4,4	140,6 ± 4,0	139,4 ± 3,0
	HD	139,8 ± 1,5	143,0 ± 8,0	138,8 ± 2,2
K ⁺ (mmol/l)	K	6,8 ± 0,8	3,9 ± 0,3	4,8 ± 0,6
	ND	6,9 ± 0,3	4,4 ± 0,8	4,9 ± 1,7
	MD	5,1 ± 1,1	4,2 ± 0,6	5,1 ± 0,7
	HD	5,3 ± 0,7	4,7 ± 0,7	5,6 ± 0,6
Ca ⁺⁺ (mmol/l)	K	3,62 ± 0,27	3,27 ± 0,18	3,45 ± 0,15
	ND	3,54 ± 0,24	3,15 ± 0,16	3,30 ± 0,76
	MD	3,30 ± 0,28	3,05 ± 0,17	3,57 ± 0,14
	HD	3,28 ± 0,36	3,44 ± 0,58	3,61 ± 0,20
T ₃ (ng/ml)	K	0,68 ± 0,075	0,62 ± 0,036	0,62 ± 0,040
	ND	0,68 ± 0,075	0,52 ± 0,082	0,64 ± 0,052
	MD	0,68 ± 0,064	0,55 ± 0,086	0,60 ± 0,041
	HD	0,70 ± 0,056	0,51 ± 0,064	0,63 ± 0,071
I ₄ (µl/dl)	K	2,06 ± 0,055	3,30 ± 0,158	2,16 ± 0,151
	ND	2,04 ± 0,195	3,10 ± 0,414	2,90 ± 0,370
	MD	2,06 ± 0,152	3,70 ± 1,040	2,20 ± 0,380
	HD	2,18 ± 0,239	2,92 ± 0,330	2,68 ± 0,589
TBK	K	0,66 ± 0,027	0,58 ± 0,035	0,61 ± 0,037
	ND	0,64 ± 0,010	0,60 ± 0,036	0,62 ± 0,043
	MD	0,69 ± 0,045	0,56 ± 0,103	0,61 ± 0,043
	HD	0,64 ± 0,044	0,66 ± 0,076	0,59 ± 0,034
FT ₄ -Index	K	3,14 ± 0,12	5,76 ± 0,61	3,55 ± 0,40
	ND	3,19 ± 0,34	5,22 ± 0,91	3,74 ± 0,84
	MD	3,11 ± 0,50	7,12 ± 3,74	3,69 ± 0,83
	HD	3,41 ± 0,53	4,47 ± 0,86	4,63 ± 1,29

Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der klinischen Chemie bei oraler Applikation des Präparates. Alle Werte sind Mittelwerte und Standardabweichungen aus einer Gruppe von 5 Tieren.

K : Kontrolle; ND : niedere Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.

Weitere Abkürzungen sind im Text erklärt.

TABELLE X

Versuchs-zeit	Tier-Nr.	Chemische Untersuchung					Mikroskopische Untersuchung							
		pH	Dichte	NO ₂	Eiweiß	Glukose	Keton-körper	Urobili-nogen	Bili-rubin E/μl	Iri-pel-phosphat	Ca-Mono-carbonat	Ca-Carbo-nat	Ca-Phos-phat	Sonstiges
Nullwert	K 1	9,3	1,0505	+	0,3	n	-	4	-	+	++	-	++	+++
	K 6	9,2	1,0278	-	0,3	n	-	n	-	++	-	+/-	++	+++
	ND 11	9,4	1,0285	-	0,3	n	-	1	-	+	+/-	-	++	+++
	ND 16	9,4	1,0254	-	0,3	n	-	n	-	+++	-	-	++	+++
	MD 21	9,7	1,0689	+	1	n	-	1	-	++	+++	-	++	+++
	MD 26	8,2	1,0353	+	-	n	1	n	-	+++	+++	-	++	+++
	MD 31	9,0	1,0353	+	0,3	n	-	1	-	+	+	-	++	+++
	HD 36	9,4	1,0321	+	0,3	n	-	n	-	+++	+/-	+/-	++	+++
1. Woche	K 1	9,1	1,0472	+	1	n	+	n	-	++	+/-	+/-	+	+
	K 6	9,0	1,0040	-	-	n	-	n	-	250	-	+++	++	-
	ND 11	9,4	1,0602	-	0,3	n	-	n	-	+	++	-	++	+
	ND 16	9,2	1,0382	-	0,3	n	-	n	-	250	-	-	+	-
	MD 21	8,7	1,0043	-	0,3	n	-	n	-	-	++	-	+	-
	MD 26	9,2	1,0384	-	-	n	-	n	-	-	++	+/-	++	+/-
	HD 31	6,0	1,0785	-	1	n	-	n	-	10	+++	-	++	+++
	HD 37*	8,5	1,0331	-	0,3	n	-	n	-	10	+++	-	++	+++
4. Woche	K 1	9,3	1,0363	-	0,3	n	-	n	-	++	+/-	-	++	+
	K 6	9,3	1,0430	-	0,3	n	-	n	-	+	+/-	-	++	+
	ND 11	9,3	1,0364	-	0,3	n	-	1	-	50	++	-	+	-
	ND 16	9,4	1,0128	-	-	n	-	n	-	-	+/-	-	-	-
	MD 22*	8,3	1,0024	-	-	n	-	n	-	10	-	-	+	-
	MD 26	9,3	1,0340	+	1	n	-	n	-	-	++	-	++	+
	HD 31	9,6	1,0487	-	0,3	n	-	n	-	-	+/-	+	+	+
	HD 37*	9,1	1,0147	+	0,3	n	-	n	-	-	+/-	-	-	-

Übersicht über die Ergebnisse der Urin-Untersuchungen nach oraler Applikation des Präparates. Aufgeführt sind jeweils zwei Tiere der Kontroll- und Dosisgruppen.

K : Kontrolle; MD : niedrige Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.

* : Urin konnte vom ursprünglichen Tier an diesem Tage nicht gewonnen werden.

der Jodkonzentration im Serum zu erkennen. In den folgenden Wochen ist eine Abnahme zu verzeichnen.

Anders bei Harn und Kot. Hier wird das nach einer Woche erreichte Maximum beibehalten. Obwohl hier der Anteil des Jods, der über den Kot wieder ausgeschieden wird, etwas höher liegt, als bei der intramuskulären Applikation, so erfolgt jedoch auch bei der oralen Applikation die Hauptausscheidung über die Nieren.

4.1.3.9. Sektionsergebnisse

Auch hier wurden die schon beschriebenen, stecknadelkopf- bis hirsekorngroßen, weißen Flecken bei zwei Tieren der Kontrolle sowie vier Tieren der niederen, drei Tieren der mittleren und zwei Tieren der hohen Dosisgruppe auf der Leber beobachtet.

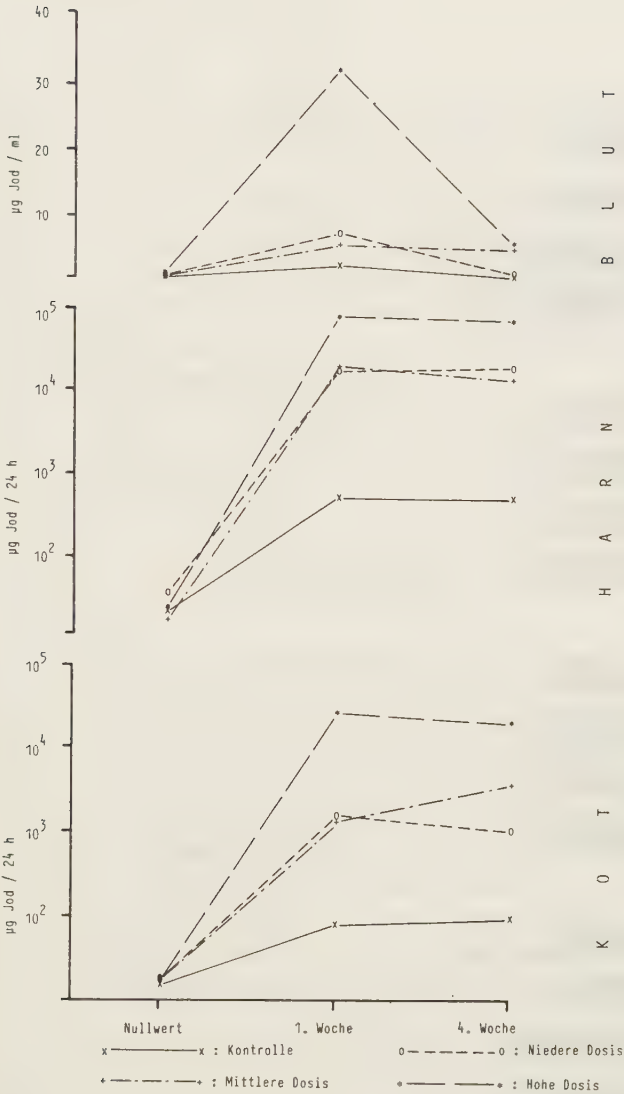
Ebenso waren die schon bei den Tieren der intramuskulären Applikationsgruppe beschriebenen, stecknadelkopfgroßen, dunklen Flecken auf den Nieren bei einem Tier der Kontrolle, drei Tieren der niederen und je einem Tier der mittleren und hohen Dosisgruppe festzustellen.

In drei Fällen fielen bei den Tieren der hohen Dosisgruppe ferner leberartig veränderte Lungenbereiche auf.

Eine Vermehrung und rötliche Verfärbung der Peritonealflüssigkeit wurde bei zwei Tieren der mittleren Dosisgruppe beobachtet.

Wie die in Abb. 16 dargestellten relativen Organgewichte zeigen, sind bei den gemessenen Organen keine dosisabhängigen Veränderungen zu bemerken; lediglich bei der Milz fallen grobse individuelle Schwankungen auf, die allerdings auch bei den Kontrolltieren zu beobachten sind.

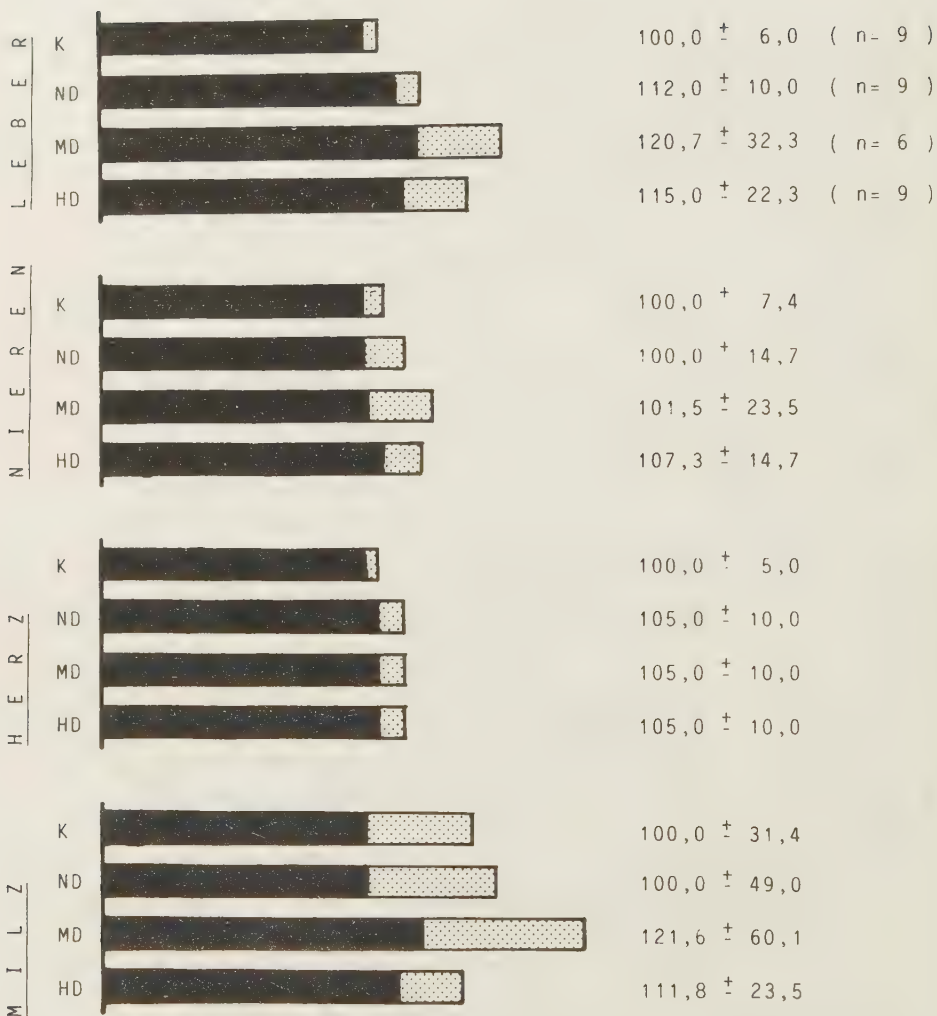
ABBILDUNG 15



Verlauf der Jodkonzentration in Blut, Urin und Kot bei oraler Applikation des Präparates.

Im Falle des Blutes stellen die Werte der Graphik Mittelwerte aus 5 Einzelwerten, im Fall von Urin und Kot Mittelwerte aus zwei Einzelwerten dar.

ABBILDUNG 16



Relative Organgewichte der zu Versuchsende seziierten Tiere bezogen auf die relativen Organgewichte der Kontrollgruppe nach oraler Applikation des Präparates.

Die Säulenhöhe stellt den Mittelwert der jeweiligen Dosisgruppe bezogen auf die Kontrolle (= 100,0 %) dar. Der gepunktete Bereich entspricht der positiven Standardabweichung.

K : Kontrolle; ND : niedere Dosis; MD : mittlere Dosis; HD : hohe Dosis.

n : Anzahl der untersuchten Tiere.

4.1.3.10. Ergebnisse der pathologisch-histologischen Untersuchung

Auch hier wurden bei einigen Tieren entzündliche Zellinfiltrate in den Lungen festgestellt. Im Gegensatz zu den Gruppen mit dermalen und intramuskulärer Applikation, bei denen es sich um interstitielle Entzündungen handelte, wiesen die Tiere nach oraler Applikation Entzündungen mit purulentem Charakter auf.

Die an der Leber beobachteten Veränderungen entsprachen denen, die die Tiere der anderen Applikationsarten aufwiesen (4.1.1.10., 4.1.2.10.).

4.2. Teratologische Untersuchungen

4.2.1. Befunde an den Muttertieren

4.2.1.1. Körpergewichtsentwicklung der Muttertiere

Bei den graviden Muttertieren war eine deutliche Dosisabhängigkeit der Gewichtsentwicklung festzustellen.

Während die Kontrolltiere durchschnittlich um 16,7 % im Laufe der 28-tägigen Tragzeit zunahmen, waren es bei der niederen Dosisgruppe 13,4 %, bei der mittleren 11,7 % und bei der hohen schließlich nur noch 9,5 %.

4.2.1.2. Ergebnisse der klinischen Untersuchung

Eine Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens der Muttertiere durch die Substanzapplikation war nicht feststellbar.

Bei einem Tier der mittleren Dosis wurde in der 2. Trächtigkeitswoche eine vollständige Lähmung beider Hintergliedmaßen beobachtet. Das Tier hat am 24. Tag der Gravidität verworfen.

4.2.1.3. Pathologische Veränderungen an den Muttertieren

Wie Tabelle XI zeigt, treten bei allen Dosisgruppen Resorptionen auf, ohne daß jedoch eine Dosisabhängigkeit erkennbar wäre.

4.2.2. Befunde an den Feten

Eine übersichtliche Darstellung gibt Tabelle XI.

4.2.2.1. Lebensfähigkeit der Feten

Bei der Kontrollgruppe wurden ein, bei der mittleren Dosisgruppe zwei tote Feten festgestellt.

4.2.2.2. Gewicht der Feten und Plazenten

Eine leichte Abnahme des Gewichtes ist sowohl bei den Feten als auch den Plazenten der Gruppen, die die Prüfsubstanz erhalten haben, gegenüber der Kontrollgruppe feststellbar.

4.2.2.3. Mißbildungen am Skelett

Mißbildungen am Skelett konnten bei den für diese Untersuchung präparierten Feten nicht festgestellt werden.

4.2.2.4. Mißbildungen innerer Organe

Sie konnten bei allen Dosisgruppen festgestellt werden. Im Einzelnen wurden bei einem Fetus der Kontrollgruppe perirenale Blutungen, bei drei Feten der niederen Dosisgruppe ektopische Nieren festgestellt. Bei einem Tier derselben Gruppe waren die Nieren verschmolzen, bei einem weiteren die Leber mißgebildet. Eine weitere ektopische Niere wurde bei einem Tier der mittleren Dosis beobachtet. In der hohen Dosisgruppe war in einem Fall nur eine Niere ausgebildet, in einem weiteren lag eine Mißbildung des Zwerchfelles vor.

Von einem Dosisbezug kann aufgrund der Verteilung der Mißbildungen nicht gesprochen werden.

4.2.2.5. Prä- und Postimplantationsverluste sowie Mißbildungsrate

Wie Tabelle XI zeigt, sind in keinem Fall Dosisabhängigkeiten der genannten Parameter feststellbar.

TABELLE XI

Dosisgruppe	Kontrolle	Niedere Dosis	Mittlere Dosis	Hohe Dosis
Eingesetzte ♀♀	12	14	15	15
Davon gravid	10	9	10*	9**
Verendete gravide	0	0	0	0
♀♀ m. Resorptionen	5	5	7	4
♀♀ m. Mißbildungen	0	0	0	0
Anzahl lebender Feten	70	67	66	71
Anzahl toter Feten	1	0	2	0
Anzahl d. Runts***	1	2	1	1
Anzahl d. Resorptionen	7	9	13	8
Anzahl d. Mißbildungen	1	5	1	2
Anzahl pro gravidem ♀	($\bar{x} \pm SD$)			
Lebende Feten	$7,0 \pm 2,16$	$7,4 \pm 2,87$	$7,4 \pm 1,87$	$8,8 \pm 1,80$
Tote Feten	$0,1 \pm 0,32$	$0,0 \pm -$	$0,22 \pm 0,44$	$0,0 \pm -$
Resorptionen	$0,7 \pm 0,95$	$1,0 \pm 1,12$	$1,44 \pm 1,13$	$1,0 \pm 1,41$
Implantationen	$7,8 \pm 2,39$	$8,44 \pm 2,60$	$9,11 \pm 1,83$	$9,88 \pm 1,96$
Gelbkörper	$9,3 \pm 1,83$	$10,67 \pm 1,58$	$9,89 \pm 1,90$	$11,00 \pm 4,09$
Resorptionen in % d. Implantationen	$8,04 \pm 9,96$	$12,58 \pm 15,29$	$15,13 \pm 10,93$	$9,19 \pm 12,2$
Präimplantationsverluste (in %)	$18,2 \pm 20,4$	$27,5 \pm 28,4$	$10,4 \pm 17,6$	$11,6 \pm 16,9$
Postimplantationsverluste (in %)	$9,13 \pm 9,57$	$12,58 \pm 15,27$	$18,08 \pm 14,15$	$9,18 \pm 12,2$
Mißbildungsrate	1,43	7,46	1,52	2,82
Mittleres Feten-gewicht (in g)	$42,6 \pm 5,56$	$39,8 \pm 7,47$	$36,3 \pm 4,14$	$37,3 \pm 2,41$
Mittleres Placenten-gewicht (in g)	$4,23 \pm 0,76$	$4,07 \pm 0,77$	$3,79 \pm 0,79$	$3,74 \pm 0,24$

Übersicht über die Ergebnisse der teratologischen Untersuchungen.

10* : ein Tier dieser Gruppe hat am 24. Trächtigkeitstag verworfen; es wurde aus diesem Grund bei den obigen Berechnungen nicht berücksichtigt.

9** : ein Tier dieser Gruppe hatte am 27. Trächtigkeitstag eine Frühgeburt; die toten Feten wurden morgens im Käfig gefunden. Auch dieses Tier wurde bei obigen Berechnungen nicht berücksichtigt.

Runts*** : Fetus mit weniger als 70 % des Durchschnittsgewichtes des Wurfs.

5. DISKUSSION

5.1. Allgemeines

In den letzten Jahren wurde in Klinik und Praxis immer mehr erkannt, daß die Gefahr von Wundinfektionen durch den lokalen Einsatz von Antibiotika nicht etwa gebannt, sondern sogar stark angestiegen ist (REITER, G., 1982), was auf die zunehmende Zahl der Resistenzentwicklungen zurückzuführen ist.

So sind heute bereits viele Kliniken dazu übergegangen, auf den lokalen Einsatz von Antibiotika ohne vorhergehende Resistenzbestimmung ganz zu verzichten. Wie Tabelle I zeigt, bietet PVP-Jod als lokales Antiseptikum hier eine echte Alternative.

Über mögliche lokale und systemische Nebenwirkungen, vor allem der erst seit kurzer Zeit bekannten, niedermolekularen PVP-Jod-Komplexe, ist noch recht wenig bekannt (GÖRZT, G. et al., 1981; GÖRTZ, G. et al., 1982; SCHÜLKE & MAYR GmbH, 1982). Allerdings vermutet man, daß gerade diese niedermolekularen PVP-Jod-Komplexe die für höhermolekulare PVP-Jod-Komplexe typischen, unerwünschten Begleiterscheinungen nicht besitzen.

So schreibt die Amerikanische Food and Drug Administration (FDA, 1978) :

.... In einem Kommentar wurde dafür plädiert, daß die Anwendung von Povidon-Jod (PVP-I) Einschränkungen unterliegen sollte, und zwar in Abhängigkeit von der Molekulargröße. Veröffentlichten Forschungsergebnissen zufolge, die im Kommentar zitiert werden, können Povidon-Jod-Moleküle, die größer als 35.000 Dalton sind, die von den Nieren nicht ausgeschieden werden, Knötchen im Lymphsystem verursachen sowie kosmetische Veränderungen der Haut im Bereich heilender Wunden.

Der Ausschuß erkannte zwar an, daß eine Beziehung zwischen Molekulargröße und Knötchenbildung im Lymphsystem durch Einwirkung von Povidon-Jod besteht, traf jedoch keine Entscheidung bezüglich der Beschränkung

der Molekulargröße, die solche pathologischen Veränderungen hervorrufen kann. Der Beauftragte hat festgestellt, wobei er sich auf Gutachten und den mit umfassender Dokumentation versehenen Kommentar stützte, daß ein Molekulargewicht von 35.000 Dalton die sichere Obergrenze für die parenterale Anwendung von PVP-Jod ist. Diese Berechnung geht davon aus, daß ein Povidon-Jod-Molekül mit diesem Molekulargewicht zu groß wäre, um die Nieren zu passieren

Die eigenen Untersuchungen fanden im Rahmen der Überprüfung eines solchen niedermolekularen PVP-Jod-Komplexes auf seine subakute Toxizität bei verschiedenen Applikationsformen sowie möglichen teratologischen Wirkungen statt.

5.2. Eigene Untersuchungen

5.2.1. Klinische Befunde der subakuten Toxizitäten

Während hinsichtlich des Futterverbrauches keine applikations- oder dosisbezogenen Veränderungen festzustellen sind, zeigt sich bei der Gewichtsentwicklung der Tiere, die das PVP-Jod intramuskulär verabreicht bekamen, im Falle der hohen Dosisgruppe eine im Gegensatz zu allen übrigen Versuchsgruppen stehende Gewichtsabnahme.

Diese kann zwar durch die infolge der hohen Mortalitätsrate (Abb. 14) veränderte Gruppenzusammensetzung herbeigeführt worden sein, aber es kann auch ein erhöhter Grundumsatz nicht ausgeschlossen werden. Für letzteres sprechen gleichfalls die stark erhöhten Schilddrüsenhormonwerte in dieser Gruppe (Tab. VII).

Die Mortalitätsrate fiel bei der Gruppe mit intramuskulärer Applikation am höchsten aus, wobei jedoch eine echte Dosisabhängigkeit nicht festgestellt wurde.

Vergleicht man die in den Abbildungen 4, 9 und 14 dargestellten Mortalitätsraten bei unterschiedlicher Applika-

tion , so deuten die Resultate eher auf einen Zusammenhang zwischen Applikationsart und Mortalität, als auf einen Zusammenhang zwischen Dosis des Prüfpräparates und Mortalität hin.

So ist eines der beiden Tiere der hohen Dosisgruppe mit dermalen Applikation infolge eines verstopften Tränenrippels verdurstet, während beim zweiten Tier dieser Dosisgruppe ein Blutgerinnsel in der Schädelhöhle festgestellt wurde, was darauf hindeutet, daß dieses Tier durch eine selbst beigefügte Schädelverletzung zu Tode kam.

Für einen starken Einfluß der Applikationsmethode auf die Ergebnisse sprechen auch die klinischen Beobachtungen. So ist die große Zahl der Hintergliedmaßenlähmungen, die in der Gruppe mit intramuskulärer Applikation zu beobachten war, ohne Zweifel auf die im Lumbalbereich durchgeführten, täglichen Injektionen der Prüfsubstanz zurückzuführen. Der Grad der Veränderungen stieg mit zunehmender Dosis. Daß bei intramuskulärer Applikation im Falle der hohen Dosisgruppe nicht mehr Lähmungen festgestellt wurden, dürfte auf die zahlreichen, zum Teil schon recht früh zu verzeichnenden Todesfälle zurückzuführen sein. Möglicherweise kam es durch ein Übergreifen der entzündlichen Prozesse auf das Rückenmark und die Spinalganglien nicht nur zu Lähmungen der Hintergliedmaßen, sondern auch zu einer nervalen Minderversorgung innerer Organe, was im einen oder anderen Fall möglicherweise die Todesursache war.

Die bei oraler Applikation gehäuft auftretenden Rhinitiden sind als Folge der täglichen Reizung mit der Schlundsonde erklärbar.

5.2.2. Klinische Chemie und Hämatologie der subakuten Toxizitäten

Das in der 4. Woche bei dermalen und intramuskulärer Applikation vermehrte Auftreten eosinophiler Granulozyten bei allen Gruppen, die die Prüfsubstanz erhielten, ist meist auf wenige, recht hohe Einzelwerte zurückzuführen, wobei diese allerdings keine Dosisabhängigkeit zeigen. Möglicherweise sind sie ein Hinweis auf allergische Reaktionen, wie sie ja vom Jod und verschiedenen Jodverbindungen her bekannt sind (BISHOP, M.E., GARCIA, R.L., 1978; BOGASH, R.C., 1959; FELDTMAN, R.W. et al., 1979; RAY, B., DUBEY, Y.D., 1969; RAKOSKI, J., 1975; ROSENBERG, F.R. et al., 1972).

Der bei allen Gruppen der dermalen Applikation während des Versuches feststellbare Anstieg der Gesamtleukozyten dürfte auf die durch den Verband verursachte Schorfbildung (4.1.1.3.) und die damit einhergehenden Entzündungen zurückzuführen sein.

Der bei intramuskulärer Applikation bei allen Gruppen festgestellte Anstieg der Retikulozyten in der 4. Woche, ist als Reaktion auf vorangegangene Blutentnahmen, oder aber subkutane, applikationsbedingte Blutungen aufzufassen. Bedingt durch diese, dürfte es zu einer Ankurbelung des erythropoetischen Systems gekommen sein (KRAFT, W., DÜRR, U.M., 1981).

Der ebenfalls bei allen Gruppen der intramuskulären Applikation beobachtete Anstieg der neutrophilen Granulozyten, dürfte die Folge applikationsartbedingter Entzündungsprozesse sein.

Die bei dermalen Applikation zu Versuchsbeginn festgestellten, erhöhten CK-Werte lassen sich damit erklären, daß

den Tieren bereits am Tage vor dem aufgeführten Nullwert Blut aus der Ohrvene entnommen wurde, um die Nullwerte zu gewinnen. Da von diesen Blutproben über die Hälfte geronnen, mußte die Blutentnahme wiederholt werden. Die hohen Werte können demzufolge als Reaktion der sehr empfindlichen CK auf die Injektion am Vortag angesehen werden (SCHMIDL, M., 1981). Als Nullwerte können auch die entsprechenden Werte der subakuten Toxizitäten bei intramuskulärer und oraler Applikation herangezogen werden (Tab. VI und Tab. IX).

Die selbe Ursache dürfte für die etwas erhöhten K^+ - und Ca^{++} -Werte zu Versuchsbeginn verantwortlich sein (KRAFT, W., DÜRR, U.M., 1981). So kann eine durch die Injektion am Vortag ausgelöste Entzündung eine vermehrte intrazelluläre K^+ - und Ca^{++} -Freisetzung zur Folge haben.

Während bei dermalen und oraler Applikation keine Abweichungen der GOT vom Normalbereich ($= \bar{x} \pm 2s$) (HEBOLD, G., BLEUEL, H., 1973; HEIN, B., LÄMMLER, G., 1979; SCHMIDTMANN, W. et al., 1973) und auch keine zeit- und dosisabhängigen Veränderungen auftreten, ist bei der intramuskulären Applikation vor allem in der 4. Woche bei der hohen Dosisgruppe eine leichte Erhöhung der Werte festzustellen. Die Signifikanz der Zunahme ist zwar bei allen Gruppen, bei denen diese Applikationsweise durchgeführt wurde, gegeben, jedoch hat, wie auch bei der hohen Dosis, nur eine geringe Zunahme stattgefunden. Bei einem durch das Präparat bedingten Leberschaden wären deutlichere Veränderungen zu erwarten. Höchstwahrscheinlich rühren die beobachteten Zunahmen von den injektionsbedingten Muskelläsionen her (SCHMIDL, M., 1981).

Gleiches dürfte für den zum Versuchsende hin in dieser Gruppe beobachteten Anstieg der CK verantwortlich zu machen sein (KRAFT, W., DÜRR, U.M., 1981; SCHMIDL, M., 1981).

Die bei allen Gruppen in unterschiedlich starkem Maße erkennbare Abnahme der Aktivität der AP und der damit eng verbundene Abfall des Serum-Calcium-Spiegels, dürften auf das zunehmende Alter der Tiere, die zu Versuchsbeginn noch nicht ganz ausgewachsen waren, zurückzuführen sein (KRAFT, W., DÜRR, U.M., 1981).

Die Harnstoffwerte bewegen sich zwar bei allen Gruppen der jeweiligen Applikationsarten im Normalbereich (BURNS, K.F., DE LANNOY, C.W., 1966; HEBOLD, G., BLEUEL, H., 1973), zum Versuchsende hin ist aber bei allen ein signifikanter Abfall feststellbar. Da die Urinmenge bei den erfaßten Tieren zum Versuchsende zunahm, kann auf eine verminderte tubuläre Rückresorption geschlossen werden. Dafür spricht auch, daß das spezifische Gewicht des Harnes bei den meisten Tieren in der 4. Woche tiefer lag, als vor Versuchsbeginn (Tab. V, VIII und XI).

Ursächlich könnte bei einer verminderten Rückresorption an eine vom Versuchsstreß herrührende Erschöpfung der Nebennierenrinde und eine damit einhergehende, verminderte Aldosteronfreisetzung gedacht werden. Für eine Erhärtung dieser Vermutung wären jedoch Messungen der Elektrolytkonzentrationen im Urin nötig gewesen.

Bei keiner der Gruppen waren zeit- oder dosisabhängige Veränderungen der Elektrolyte Na^+ und K^+ feststellbar, die mit dem Prüfpräparat in Zusammenhang gebracht werden können.

Die Konzentration der Schilddrüsenhormone T_3 und T_4 sowie die Thyroxinbindungskapazität weisen weder bei der dermalen noch bei der oralen Applikation dosisabhängige Veränderungen auf. Bei allen Kontroll- und Testgruppen sind jedoch Veränderungen im zeitlichen Verlauf des Versuches erkennbar. Möglicherweise sind hierfür die Versuchsbedingungen, als deren Folge es zu einer erhöhten Ausschüttung von Neben-

nierenrindenhormonen kommen könnte, verantwortlich zu machen. Als Folge einer solchen Vermehrung der Nebennierenrindenhormone wäre an eine Hypoproteinämie, mit entsprechenden Auswirkungen auf die Trägerproteine, zu denken.

Anders verhält es sich bei intramuskulärer Applikation. Die einwandfrei feststellbaren, dosisabhängigen Veränderungen der Serumspiegel von Schilddrüsenhormonen sowie der freien Thyroxinbindungskapazität werden vor allem bei T_4 und TBK deutlich. Bei der mittleren und hohen Dosis liegt, was auch der FT_4 -Index beweist, eine Hyperthyreose vor. Leider stehen für Kaninchen noch keine Normwerte, die nach dem angewandten ELISA-Prinzip (2.1.1.8., 2.1.1.9. und 2.1.1.10.) gewonnen wurden, zur Verfügung.

Wie auch die Literatur zeigt (ALDEN, E.R. et al., 1970; ARANGO, A. et al., 1979; GOLGMAN, M., LANDRY, D., 1976; HIGGINS, H.P. et al., 1964; KING, I.R., DIDDLE, A.W., 1970; NIERLICH, I. et al., 1980; QUAGLIANA, J.M., 1936), ist das Auftreten von Veränderungen der Schilddrüsenhormonspiegel stark abhängig von der Art und Dauer der Applikation verschiedener Jodverbindungen sowie von Jod, während ein Anstieg des Serumjodspiegels fast immer zu beobachten ist. Scheinbar waren auch bei den durchgeführten Untersuchungen die Versuchstiere der dermalen und oralen subakuten Toxizität in der Lage das hohe Jodangebot so zu verkraften, daß es zu keiner Durchbrechung des Schilddrüsenhormon-Regelkreises kam, während die Tiere der intramuskulären subakuten Toxizität die hohen Joddosen nicht mehr in allen Dosisgruppen kompensieren konnten.

Die im Rahmen der Urinuntersuchung gemessenen Parameter (Tab. V, VIII und XI) ließen keinerlei Bezug zur Dosis der Prüfsubstanz erkennen. Allerdings fielen die schon ange-

sprochene Abnahme des spezifischen Gewichtes sowie die Zunahme des Volumens in der 4. Woche bei fast allen Gruppen der verschiedenen Applikationsarten auf.

Wie aus dem Verlauf der Jodkonzentrationen in Blut, Urin und Kot hervorgeht (Abb. 6, 11 und 16), wird nicht nur bei intramuskulärer, sondern auch bei dermalen und oraler Applikation ein deutlicher Anstieg der Jod-Serumkonzentration beobachtet. Dies bedeutet, daß auch bei derartiger Applikation mit systemischen Wirkungen des PVP-Jods zu rechnen ist.

Ferner erfolgt die Exkretion des PVP-Jods beziehungsweise des abgespaltenen Jods zum größten Teil über die Nieren, wie dies auch in der Literatur mehrfach belegt ist (VOUGHT, R.L., LONDON, W.T., 1967; VOUGHT, R.L. et al., 1963).

Bei allen drei Applikationsarten ist nach einer Woche ein deutliches, dosisabhängiges Maximum der Jodkonzentration im Blut festzustellen, die in der 4. Woche wieder, von einer Dosisgruppe der dermalen Applikation abgesehen (4.1.1.8.), stark abnimmt.

Bei Harn und Kot erfolgt bei allen Gruppen in der 1. Woche ein steiler Anstieg, der sich dann auf einem dosisabhängigen, weniger steilen Anstieg beziehungsweise auf einem Niveau zur 4. Woche hin einpendelt. Die vor allem beim Kot nicht immer gegebene Dosisabhängigkeit dürfte auf die Tatsache zurückzuführen sein, daß es sich um Werte von jeweils nur zwei Tieren und die sich daraus ergebenden Schwankungen der Mittelwerte handelte. Der bei der niederen Dosis nach dermalen Applikation zu beobachtende Anstieg der Jodserumkonzentration in der 4. Woche dürfte als Artefakt anzusehen sein, da er zum größten Teil auf einen einzelnen Wert zurückzuführen ist, der möglicherweise als Folge einer Kontamination der Blutentnahmestelle mit PVP-Jod-Salbe zustande

kam.

Ähnlich dürfte der Anstieg des Jodgehaltes im Harn der Kontrolltiere nach vier Wochen zustande gekommen sein. Auch hier ist ein Einzelwert für den Anstieg verantwortlich und somit eine mögliche Kontamination des Harnsammelgefäßes mit PVP-Jod-Salbe in Betracht zu ziehen.

Daß es bei allen drei Gruppen in der 4. Woche zu einem Abfall der Jodkonzentration im Blut kommt, könnte auf Mechanismen hindeuten, die für die Aufrechterhaltung eines bestimmten Jodspiegels im Organismus zu sorgen haben. So soll die Jodausscheidung in der Niere eng mit der Ausscheidung von Chlorid verbunden sein (CASSANO, C. et al., 1960; RIGGS, D.S., 1949). Ferner ist eine Steigerung der tubulären Jodexkretion im Zusammenhang mit Nebennierenrindenhormonen beschrieben worden (INGBAR, S.H., 1953; INGBAR, S.H., FREINKEL, N., 1956). Die Clearance für Jodid, der Ausscheidungsform des Jods, soll bei chloridreicher Diät ansteigen, bei chloridarmer sinken (CASSANO, C. et al., 1960; GIEBISCH, G. et al., 1956; HALMI, N.S., 1958; RIGGS, D.S., 1949). Das könnte bedeuten, daß beide die selben Membranproteine als Carrier benutzen, und daß der Gehalt der Tubulusmembranen an diesem Carrierprotein möglicherweise über eine Enzyminduktion reguliert wird.

So wäre auch zu verstehen, warum es bei einer über längere Zeit regelmäßig, auf verschiedene Art und Weise verabreichten Jodmenge schließlich zu einem Abfall der Jod-Serum-Konzentration kommen kann und der Organismus so eine Adaptation an die Zufuhr großer Jodmengen erfährt.

Für die Untermauerung dieser Gedanken wären jedoch nicht nur die Messung der Jodkonzentrationen in einem größeren Umfang, sondern auch die Erfassung weiterer Elektrolyte, wie Cl^- und Mg^{++} in Blut und Urin sinnvoll gewesen.

Daß bei der Jodausscheidung über den Harn die Werte im Falle der oralen Toxizitätsstudie wesentlich höher liegen, als bei dermalen Applikation, dürfte nicht nur darauf zurückzuführen sein, daß die Magen-Darm-Schleimhaut wesentlich bessere Resorptionsbedingungen bietet als die skarifizierte Haut, sondern auch auf die Tatsache, daß diesen Kaninchen, infolge der diesen Tieren eigenen Koprophagie, das applizierte PVP-Jod mehrmals zur Resorption zur Verfügung stand.

5.2.3. Sektionsbefunde und histologische Pathologie

Bei der Sektion wurden bei den Gruppen der oralen und dermalen subakuten Toxizität keine Veränderungen festgestellt, die auf einen ursächlichen Bezug zur zu prüfenden Substanz hindeuten. Interessanterweise war selbst an den empfindlichen Schleimhäuten des Magen-Darm-Traktes nach oraler Applikation keinerlei Reizung festzustellen.

Anders bei der intramuskulären Applikation. Hier nahm der Grad der nekrotischen Veränderungen der Lumbalmuskulatur eindeutig mit der Dosis zu. Wie die histologische Untersuchung zeigte, handelte es sich um Muskelnekrosen, für die mit großer Wahrscheinlichkeit die stark oxydierenden Eigenschaften des Jods verantwortlich zu machen sind. Jedoch könnte auch die Tatsache, daß das PVP-Jod nicht in einer physiologischen Kochsalzlösung, sondern in Aqua dest. gelöst war, mit eine Rolle spielen.

Wie Abb. 12 zeigt, war bei dieser Gruppe im Gegensatz zu dermalen und oraler Applikation auch eine deutliche Zunahme der auf das Körpergewicht bezogenen Organgewichte im Falle von Herz und Milz bei den einzelnen Dosisgruppen feststellbar. Aufschluß, ob es sich hier um eine Reaktion des

Kreislaufsystems sowie der blutbildenden Organe auf das täglich verabreichte Polyvinylpyrrolidon, das in den 40er und 50er Jahren weite Anwendung als Plasmaexpander fand (HECHT, G., WEESE, H., 1943; RAVIN, H.A., et al., 1952; SCHULZ, E., 1941; WEESE, H., 1953), handelte, konnte auch die Histologie nicht erbringen.

Die bei fast allen Tieren histologisch festgestellten entzündlichen Prozesse im Bereich der Lunge sind möglicherweise auf eine zu hohe relative Luftfeuchtigkeit (2.2.2.), die für Kaninchen um 50 % liegen sollte (VAN DER GULDEN, W.J.I., et al., 1975), zurückzuführen. Daß diese Entzündungen nach oraler Applikation häufig einen purulenten Charakter annahmen, dürfte auf eine applikationsartbedingte Erregereinschleppung sowie Reizungen des Rachenraumes durch die Magen-Schlund-Sonde zurückzuführen sein.

Die auch makroskopisch bei einem Großteil der Tiere aufgefallenen Entzündungsherde der Leber wurden histologisch bestätigt und sind als Reaktion auf Oozysten von Kokzidien anzusehen, die in einem Teil der Fälle als solche von *Eimeria stiedai* identifiziert wurden.

Bei den in einem Fall nach dermalen Applikation festgestellten, mit einem braunen Pigment gefüllten Makrophagen (4.1.1.10.), handelt es sich möglicherweise um einen Vorgang, der auch in der Literatur öfters erwähnt wird (BARGMANN, W., 1946; FRESENO, O., WEESE, H., 1952; MAREK, H. et al., 1969; BESKE-NIELSEN, E. et al., 1976), und demzufolge es durch Phagozytose zur Einlagerung von PVP-Molekülen kommen kann. Daß dies bei diesem Präparat, wenn überhaupt, nur in geringem Umfang der Fall sein dürfte, dafür spricht, daß nur bei einem Tier derartige Veränderungen festgestellt wurden.

Interessanterweise wurden weder die makroskopisch an den Nieren festgestellten Veränderungen (4.1.2.9., 4.1.3.9.)

histologisch bestätigt, noch Besonderheiten am Funktionszustand der Schilddrüsen erkannt.

5.2.4. Ergebnisse der teratologischen Untersuchungen

Die Überprüfung von Polyvinylpyrrolidon-Jod auf teratogene Eigenschaften am Kaninchen läßt in den verwendeten Dosen keine eindeutigen embryotoxischen oder teratogenen Effekte erkennen.

Die bei den Muttertieren beobachtete dosisabhängige, verringerte Körpergewichtszunahme im Verlaufe der Gravidität entspricht Befunden, die bei der gleichen Applikationsart auch während der subakuten Toxizitätsstudie bei der hohen Dosisgruppe gemacht wurden (4.1.1.2. und Abb. 9), und ist wie diese zu interpretieren (5.2.1.).

Auch bei Feten und Plazenten war eine leichte Abnahme des Durchschnittsgewichtes bei den Gruppen, die die Prüfsubstanz erhalten hatten, feststellbar, ohne daß jedoch eine Dosisabhängigkeit gegeben gewesen wäre.

Bei den übrigen gemessenen Parametern war kein Dosisbezug erkennbar.

Die vereinzelt angetroffenen Mißbildungen wiesen zwar eine Häufung bezüglich der Nieren auf, eine Beziehung zur applizierten Dosis bestand allerdings nicht.

Die dargestellten Ergebnisse führen zu dem Schluß, daß im Bereich der applizierten Dosen keine teratogene Potenz der Substanz PVP-Jod zutage tritt, was auch in der Literatur beschrieben wurde (MERKLE, J., ZELLER, H., 1979).

5.3. Schlußfolgerungen und Ausblick

Wie die Ergebnisse der subakuten Toxizität zeigen, ist

bei jeder der geprüften Applikationsmethoden auch mit einer systemischen Wirkung des PVP-Jods zu rechnen, da es immer zu einem Anstieg der Jodkonzentration im Serum kam. Allerdings waren nur bei der intramuskulären Applikation, bei der die Jodkonzentration im Blut in der hohen Dosisgruppe nach einer Woche um das fast 1300-fache gegenüber dem Nullwert erhöht war, auch eine Konzentrationsveränderung der Schilddrüsenhormone T_3 und T_4 sowie der Thyroxinbindungskapazität (TBK) bei der mittleren und hohen Dosisgruppe festzustellen, die für eine hyperthyreote Entgleisung sprechen.

Aufgrund der großen Toleranz, die die Kaninchen gegenüber den hohen Jodkonzentrationen im Blut zu besitzen scheinen, waren bei den übrigen Applikationsarten keine derartigen Veränderungen feststellbar.

Interessant wäre es, durch weiterführende Untersuchungen mehr über eine möglicherweise durch länger dauernde, regelmäßige Applikation hoher Joddosen induzierbare Steigerung der Jodsekretion in der Niere zu erfahren.

Zudem sollte ein Teil der Tiere über den Zeitraum, in dem das Präparat appliziert wird, hinaus weiter beobachtet und untersucht werden, um die Folgen des Absetzens einer so großen täglichen Jodzufuhr auf den Organismus in Erfahrung zu bringen.

Im Rahmen solcher weiterführender Untersuchungen wäre es sicher auch sinnvoll nicht nur im Blut weitere Elektrolyte, wie etwa Cl^- , sondern auch im Urin, und das in einem größeren Umfang, K^+ , Na^+ , Ca^{++} und Cl^- zu bestimmen, um Erkenntnisse über Wechselwirkungen zwischen Jod und diesen Elektrolyten bei Applikation des Präparates zu erhalten.

An den Hersteller sollte die Empfehlung ergehen, das PVP-Jod in einer isoosmotischen Lösung auf den Markt zu bringen

und nicht in einer hypoosmotischen Lösung, um dadurch bedingte Nebenwirkungen auszuschließen.

Auch zur Abklärung teratologischer Nebenwirkungen wären weiterführende Untersuchungen wünschenswert.

So ist vor allem eine histologische Untersuchung der Schilddrüsen der Embryonen unerlässlich, da embryotoxische Wirkungen des Jods sowie auch des PVP-Jods zwar hinreichend bekannt sind (BLACK, J.A., 1963; CARSWELL, F. et al., 1970; HASSAN, A.J. et al., 1968; SANDER, J., NIEHAUS, CH., 1980), im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen jedoch nicht bestätigt werden konnten.

6. Z U S A M M E N F A S S U N G

1. Ein neuer PVP-Jod-Komplex mit einem mittleren Molekulargewicht von 10.000 Dalton wurde auf seine subakute Toxizität und möglichen teratologischen Eigenschaften hin am Kaninchen untersucht.

Im Rahmen der 28-tägigen Prüfung auf subakute Toxizität wurde das PVP-Jod dermal, intramuskulär und oral in jeweils verschiedenen Dosierungen appliziert.

2. Neben Futteraufnahme, Körpergewichtsentwicklung, einer täglichen klinischen Allgemeinuntersuchung und der Durchführung umfangreicher hämatologischer Untersuchungen, wurden auch klinisch-chemische Parameter, unter besonderer Berücksichtigung der Schilddrüsenhormone T_3 und T_4 sowie der Thyroxinbindungskapazität, gemessen. Um Hinweise auf die Resorption, Verteilung und Exkretion von PVP-Jod zu erhalten, wurde das Gesamtjod in Blut, Harn und Kot mittels einer Aktivierungsanalyse bestimmt. Der Urin eines Teiles der Tiere wurde physikalisch, chemisch und mikroskopisch untersucht. Zu Versuchsende wurden die Tiere seziert und makroskopisch auf pathologische Veränderungen hin untersucht. Die dabei entnommenen Proben wurden zusätzlich noch histologisch beurteilt.
3. Aus den Untersuchungen waren folgende Schlüsse zu ziehen:
 - a) die Veränderungen waren bei intramuskulärer Applikation am gravierendsten;
 - b) bei allen Applikationsarten erfolgte eine Resorption von Jod, die nach einer Woche in der hohen Dosierung bei dermalen Applikation zu einem über 300-fachen, bei intramuskulärer zu einem fast 1300-fachen und bei oraler Applikation zu einem fast 700-fachen Anstieg des Jods im Blut führte,

- c) lediglich die mittlere und hohe Dosisgruppe reagierten nach intramuskulärer Applikation mit deutlichen Veränderungen der Schilddrüsenfunktion in Form einer Hyperthyreose (Anstieg des T_4 -Spiegels und Abnahme der freien Thyroxinbindungskapazität);
 - d) trotz andauernder Applikation von PVP-Jod war der Jodgehalt im Blut nach vier Wochen bei allen Applikationsarten deutlich abgefallen;
 - e) der größte Teil des Jods über die Nieren ausgeschieden wurde;
 - f) vereinzelt traten vermehrt eosinophile Granulozyten auf;
 - g) bei intramuskulärer Applikation kam es zu dosisabhängigen Muskelnekrosen;
4. Die teratologischen Untersuchungen zeigten, daß
- a) die Muttertiere eine von der Dosis abhängige, verringerte Körpergewichtszunahme aufwiesen;
 - b) sowohl die Feten als auch die Plazenten bei den Tieren, die die Prüfsubstanz erhalten hatten, ein gegenüber der Kontrollgruppe verringertes Durchschnittsgewicht besaßen;

S U M M A R Y: EXAMINATION OF A NEW LOW-MOLECULAR
PVP-IODINE-COMPLEX CONCERNING ITS SUBACUTE TOXICITY
AND TERATOLOGICAL EFFECTS ON RABBITS

1. A new PVP-iodine-complex with a medium molecular weight of 10.000 Daltons was examined in order to find out its subacute toxicity and possible teratological attributes concerning rabbits.

During the 28 days of examination of the subacute toxicity the PVP-iodine was dispensed in a dermal, intramuscular and oral way, each time with different doses.

2. The uptake of food and development of body-weight was measured. A daily clinical general medical examination

and extensive haematological examinations were done. Clinical-chemical parameters were determined as well with special care of the thyroid gland hormones T_3 and T_4 and the thyroxin binding capacity. To get information about the resorption, distribution and secretion of PVP-iodine, the iodine-amount was determined in blood, urine and excrements by means of an activity analysis. Of a part of the animals the urine was physically, chemically and microscopically examined. At the end of the test the animals were dissected to see possible pathological alterations in the macroscopical sphere. In addition the taken samples were examined.

3. The examination led to the following results:
 - a) the intramuscular application showed the most obvious alterations;
 - b) with all the different ways of application a resorption of iodine was observable, that led to a more than 300-times increase of iodine in the dermal application, in the intramuscular to an almost 1300-times and in the oral application to an almost 700-times increase of iodine in blood;
 - c) only the medium and high dose-group reacted with an obvious alteration of the thyroid-gland function, showing a hyperthyreoses (T_4 -level-increase and thyroxin-binding-decrease) after intramuscular application;
 - d) despite lasting PVP-iodine application the amount of iodine in blood had decreased concerning all ways of application after four weeks;
 - e) most of the iodine had been secreted through the kidneys;
 - f) sometimes there was a higher amount of eosinophile granulocytes;
 - g) the intramuscular application showed a dose-inclined muscle-necrosis.

4. The teratological examinations showed the following results:

- a) the breeders showed a dose-inclined weight-increase;
- b) the embryos as well as the placentas of the animals that were treated with the test substance, had a lower average-weight than those of the control-group.

7. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- ALDEN, E.R., et al.: Effects of Prenatal Povidone-Iodine Perineal Antisepsis on Serum Protein-Bound Iodine.
Obstet. Gynecol. 35, 253-254, (1970)
- ALTMEYER, B.: Harnfibel
Heyden GmbH, München (1980)
- ALVAREZ, E.: Neutropenia in a Burned Patient being Treated Topically with Povidone-Iodine Foam.
Plast. Reconstr. Surg. 63, 839-840, (1979)
- AMMON, R., DEPNER, E.: Ausscheidung und Verhalten verschiedener Polyvinylpyrrolidon-Typen im Organismus.
Z. ges. exp. Med. 128, 607-628, (1957)
- ARANGO, A., et al.: Bacteriologic and Systemic Effects of Intraoperative Segmental Bowel Preparation with Povidone Iodine.
Arch. Surg. 114, 154-157, (1979)
- ARONOFF, G.A., et al.: Increased serum iodide concentration from iodine absorption through wounds treated topically with povidone-iodine.
Am. J. Med. Sci. 279, 173-176, (1980)
- BARGMANN, W.: Über Milzveränderungen nach Peristonzufuhr.
Dtsch. Med. Wschr. 71, 184-185, (1946)
- BASF : Kollidon-Marken; Polyvinylpyrrolidon für die pharmazeutische Industrie.
B 382 d, (1981)
- BENNHOLD, H., SCHUBERT, R.: Untersuchungen über die Möglichkeit einer Vehikelfunktion des Plasmaersatzstoffes Periston.
Ztschr. ges. exper. Med. 113, 722-736, (1943)
- BISHOP, M.E., GARCIA, R.L.: Iododerma from wound irrigation with Povidone-Iodine.
JAMA 240 (3), 249-250, (1978)
- BLACK, J.A.: Neonatal goitre and mental deficiency.
Arch. Dis. Childh. 38, 526-529, (1963)
- BOGASH, R.C.: Polyvinylpyrrolidone-Iodine, a Three Year Observation of a new Topical Germicide.
Bull. Amer. Soc. Hosp. Pharmacists 13, (1956)

- BURNS, K.F., DE LANNOY, C.W.: Compendium of Normal Blood Values of Laboratory Animals, with Indication of Variations. Toxicol. Appl. Pharmacol. 8, 429-437, (1966)
- CANTOR, A., SHELANSKI, H.A.: Soap and Sanitary Chemicals. (1951) nach SHELANSKI, H.A., SHELANSKI, M.V.; (1956)
- CARROLL, B., et al.: The Mode of Action of Iodine on Infectious Agents. J. Newark Beth-Israel Hosp. 6, 129, (1955)
- CARSWELL, F., et al.: Congenital goitre and hypothyroidism produced by maternal ingestion of iodides. Lancet 1, 1241-1243, (1970)
- CASSANO, C., et al.: Etude de 48 cas de goitre simple avec élévation de la clearance rénale de l'iode. In "Advances in Thyroid Research", 307-312, Pergamon Press, New York, (1960)
- CONFARMA GMBH: Untersuchungen zur akuten Toxizität von PVP-Jod K 17-Lösungen am Kaninchen. (1982) unveröffentlicht
- DACRE, G.E.: An Evaluation of PVP-I in Skin Cleaning Prior to Podiatric Office Surgery. J. Foot Surg. 10, 19, (1971)
- DAVENPORT, A.A., et al.: Canine Actinomycosis due to Actinomyces viscosus: Report of Six Cases. Vet. Med./Small Anim. Clin. 69, 1442, (1974)
- DAWSON, A.B.: A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red S. Stain. Techn. 1, 123-124, (1926)
- DUKE, W.W.: The pathogenesis of purpura haemorrhagica with special reference to the part played by blood platelets. Arch. intern. Med. 10, 445, (1912)
- FAWCETT, J.K., SCOTT, J.E.: Berthelot-Methode zur Harnstoff Bestimmung. J. clin. Path. 13, 156, (1960)
- FDA: U.S. Food and Drug Administration, Federal Register, 43 (4), Friday, January 6, (1978)
- FELDTMAN, R.W., et al.: Povidone-Iodine Skin Sensitivity Observed with possible altered Immune Status. JAMA 242, 239, (1979)

- FLATT, R.F., CARPENTER, A.B.: Identification of Crystalline Material in Urine of Rabbits.
Amer. J. Vet. Res. 32, 655-658, (1971)
- FRESEN, O., WEESE, H.: Das gewebliche Bild nach Infusion verschiedener Kollidonfraktionen (Periston N, Periston, hochvisköses Periston) beim Tier.
Beitr. Path. Anat. 112, 44-62, (1952)
- GÄRTNER, K., et al.: Untersuchungen zur Penetration von Makromolekülen (Polyvinylpyrrolidon) durch glomeruläre und postglomeruläre Capillaren in den Harn und die Nierenlymphe und zur Größe der extravasalen Umwälzung von 131 J-Albumin im Interstitium der Niere.
Pflügers Arch. 298, 305-321, (1968)
- GEISEL, O.: Anleitung zur Sektion von Haussäugetieren und Anfertigung von Sektionsprotokollen.
Inst. f. Tierpathologie, München, (1976)
- GERSHENFELD, L., WITLIN, B.: Free Halogens: A Comparative Study of their Efficiencies as Bactericidal Agents.
Amer. J. Pharmacol. 121, 95, (1949)
- GERSHENFELD, L.: Povidone-Iodine as a topical antiseptic.
Amer. J. Surg. 94, 938-939, (1957)
- GIEBISCH, G., et al.: Renal excretion of radioiodide in the frog.
Am. J. Physiol. 187, 529, (1956)
- GÖRTZ, G.: Povidone-Iodine - Alternative to Topical Antibiotics: Effect and Side Effects in Wound Treatment.
10th Intl. Congr. Chemother., Zürich (1977)
- GÖRTZ, G.: Möglichkeiten und Grenzen des Einsatzes von PVP-Jod in der Prophylaxe und Therapie von chirurgischen Infektionen.
Die Schwester-der Pfleger 5, (1979)
- GÖRTZ, G., et al.: Retention von 14 C-markiertem PVP-Jod mit hohem Molekulargewicht nach intraperitonealer Anwendung an der Ratte.
Chirurgisches Forum '81 für experimentelle und klinische Forschung, 1-6, (1981)
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York

- GÖRTZ, G., et al.: Die Wirkung einer intraoperativen Bauchhöhlenwaschung mit verschiedenen Antiseptika bei experimenteller Peritonitis. Chirurgisches Forum '82 für experimentelle und klinische Forschung, 177-183, (1982) Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
- GÖRTZ, G., HÄRING, R.: Wirkung und Nebenwirkung von Polyvinylpyrrolidon-Jod (PVP-Jod). Therapiewoche 31, 4364-4369, (1981)
- GOLDMAN, M., LANDRY, D.: The Effect of Povidone-Iodine on Thyroid Function in Rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 35, 341-346, (1976)
- HALMI, N.S., et al.: Renal excretion of radioiodide in rats. Am. J. Physiol. 193, 379, (1958)
- HASSAN, A.J., et al.: Congenital iodide-induced goitre with hypothyroidism. Arch. Dis. Childh. 43, 702-704, (1968)
- HEBOLD, G., BLEUEL, H.: Standardwerte im Vollblut und Serum beim Kaninchen. Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 23 (8), 1079-1081, (1973)
- HECHT, G., WEESE, H.: Periston, ein neuer Blutflüssigkeitsersatz. München. med. Wchnschr. 90, 11-14, (1943)
- HEIN, B., LÄMMLER, G.: Normalwerte verschiedener Enzyme und von Bilirubin im Serum von Kaninchen. Z. Versuchstierkunde 21, 139-147, (1979)
- HEMKEN, R.W.: in: CRC Handbook Series (1978) Nutrition and Food, Vol. II, 297-303, CRC-Press Inc., Palmbeach, Florida
- HIGGINS, H.P., et al.: The Effect of Povidone-Iodine (Betadine) on Serum Protein-Bound Iodine, when used as a Surgical Preparation on Intact Skin. Canad. Med. Ass. J. 90, 1298-1300, (1964)
- HOUANG, E.T., et al.: Absence of bacterial resistance to povidone-iodine. J. clin. Path. 29, 752-755, (1976)
- HUEPER, W.C.: Bioassay on Polyvinylpyrrolidones with limited Molecular Weight Range. J. Nat. Canc. Inst. 26, 229-237, (1961)

- INGBAR, S.H.: Effect of cortisone on the thyreoidal and renal metabolism of iodine.
Endocrinology 53, 171-178, (1953)
- INGBAR, S.H., FREINKEL, N.: ACTH, cortisone and the metabolism of iodine.
Metabolism 5, 652-658, (1956)
- KING, I.R., DIDDLE, A.W.: Protein-bound iodine and T₄ test after vaginal application of povidone-iodine.
Amer. J. Obstet. Gynec. 108 (8), 1175-1177, (1970)
- KNOLLE, P.: Alt und aktuell - Keime und Jod.
Hospital-Hygiene 11, 389-402, (1975)
- KNOLLE, P.: Verträglichkeit von Polyvinylpyrrolidon (PVP) in Arzneimitteln.
Pharm. Ind. 44 (9), 866-874, (1982)
- KNOLLE, P., SCHWARZMANN, G.: Povidon-Jod zur antimikrobiellen Lokalthherapie und Prophylaxe.
Hygiene + Medizin 3, 1-7, (1980)
- KRAFT, W., DÜRR, U.M.: Kompendium der klinischen Laboratoriumsdiagnostik bei Hund, Katze und Pferd.
2. Auflage, (1981)
Verlag M&H Schaper, Hannover
- LAVELLE, K.J., et al.: Transcutaneous Absorption of Iodine in Burn Patients treated with topical Betadine ointment.
Pharmacologist 16, 208, (1974)
- MAREK, H., et al.: Untersuchungen über Speicherung und Ausscheidung von tritiummarkiertem Polyvinylpyrrolidon an der Ratte.
Z. ges. exp. Med. 150, 213-222, (1969)
- MAUSS, H.J.: Betaisodona® Vaginal-Suppositorien - ein vielversprechendes Therapeutikum zur erfolgreichen Behandlung des Fluor vaginalis.
Therapiewoche 32, 77-81, (1982)
- McFADDEN, T.W.: Effective Disinfection of Trout Eggs to Prevent Egg Transmission of Aeromonas liquefaciens.
J. Fisheries Res. Board Canada 26, 2311-2314, (1969)
- MERKLE, J., ZELLER, H.: Absence of Povidone-Iodine-Induced Mutagenicity in Mice and Hamsters.
J. Pharm. Sci. 68 (1), 100-102, (1979)

- MONIF, G.R.G., et al.: Quantitative and qualitative effects of povidone-iodine liquid and gel on the aerobic and anaerobic flora of the female genital tract.
Am. J. Obstet. Gynecol. 137, 432, (1980)
- MORIGUCHI, I., et al.: Spectroscopic Studies on Molecular Interaction, II.
Complexation between Polyvinylpyrrolidone and Iodine.
Chem. Pharm. Bull. 17, 2088-2092, (1969)
- NIERLICH, I., et al.: Behandlung des infizierten Implantatlagers mit PVP-Jod.
aus: 16. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Plastische und Wiederherstellungschirurgie; Nov. 1978 in Düsseldorf;
Hrsg.: Hierholzer, G., Zilch, H., 282-286, (1980)
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
- PIETSCH, J., MEAKINS, J.L.: Complications of povidone-iodine absorption in topically treated burn patients.
Lancet I, 280, (1976)
- QUAGLIANA, J.M.: Effect of topical Povidone-Iodine on Serum-Protein-bound Iodine.
J. Clin. Endocrinol. 23, 395-397, (1963)
- RAKOSKI, J.: Jodallergien unter besonderer Berücksichtigung von Desinfektionsmitteln und Kontrastmitteln.
Unfallheilkunde 126, 637-640, (1975)
- RAVIN, H.A., et al.: Polyvinylpyrrolidon as a Plasmaexpander.
N. Engl. J. Med. 247, 921-929, (1952)
- RAY, B., DUBEY, Y.D.: A study of sensitivity induced by certain drugs by intradermal skin tests.
Ind. Jour. Med. Res. 57, 1769-1775, (1969)
- REITER, G.: Wundinfektionen: Komplexes Jod.
Selecta Supplement 4, 3-15, (1982)
- RESKE-NIELSEN, E., et al.: Polyvinylpyrrolidone storage Disease.
Acta path. microbiol. scand. Sect. A
84, 397-405, (1976)
- RIGGS, D.S.: Renal clearance of iodide in the dog.
Federation Proc. 8, 328, (1949)
- ROSENBERG, F.R., et al.: Vegetating iododerma. An immunologic mechanism.
Arch. Dermatol. 105, 900-905, (1972)

- SACHS, L.: Statistische Auswertungsmethoden.
230-238, (1968)
Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York
- SANDER, J., NIEHAUS, CH.: Konnatale Hypothyreose.
Münch. med. Wschr. 122, 309-312, (1980)
- SCHENCK, H.-U., et al.: Structure of Polyvinylpyrrolidone-Iodine (Povidone-Iodine).
J. Pharm. Sci. 68 (12), 1505-1509, (1979)
- SCHMIDL, M.: Laboruntersuchungen für die Diagnose und Verlaufskontrolle in der Veterinärmedizin.
Boehringer Mannheim GmbH, 2. Auflage, (1981)
- SCHMIDTMANN, W., et al.: Normalwerte von Versuchskaninchen.
Ärztli. Lab. 19, 351-360, (1973)
- SCHÜLKE & MAYR GmbH: Amyderm[®] S; Gutachten und Untersuchungsberichte.
(1982)
- SCHULZ, E.: Bluttransfusion und Blutersatzflüssigkeit im Kriege.
Deutsch. Med. Wschr. 29, 779-783, (1941)
- SHELANSKI, H.A., SHELANSKI, M.V.: PVP-Iodine: History, Toxicity and Therapeutic Uses.
J. Int. Coll. Surgeons 25, 727-734, (1956)
- SHROFF, A.P., JONES, J.K.: Reactions to Povidone-Iodine Preparation.
JAMA 243 (3), 230-231, (1980)
- SIGGIA, S.: The Chemistry of Polyvinylpyrrolidone-Iodine.
J. Amer. Pharm. Ass. 46, 201, (1957)
- TORAUDE, L.-G.: Bernard Courtois et la découverte de l'iode.
Verlag Vigot Frères, Paris (1921)
- VAN DER GULDEN, W.J.I., et al.: Versuchstiere und Versuchstierteknik; Bd. 1.
Veröffentlichung der Gesellschaft für Versuchstierkunde; Nr. 4.
Basel, (1975)
- VORHERR, H., et al.: Vaginal Absorption of Povidone-Iodine.
JAMA 244, 2628-2629, (1980)
- VOUGHT, R.L., et al.: Reliability of Estimates of Serum Inorganic Iodine and Daily Fecal and Urinary Iodine Excretion from single Casual Specimens.
J. Clin. Endocrinol. 23, 1218-1228, (1963)

- VOUGHT, R.L., LONDON, W.T.: Iodine intake, excretion and thyroidal accumulation in healthy subjects.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 27, 913-919, (1967)
- WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik.
6. Auflage, 501-504, (1972)
Verlag VEB Gustav Fischer, Jena
- WEESE, H.: Therapeutische Möglichkeiten mit Blutersatzstoffen.
Münch. Med. Wschr. 15, 456-459, (1953)
- WESSEL, W., et al.: Polyvinylpyrrolidon (PVP), its Diagnostic, Therapeutic and Technical Application and Consequences thereof.
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 21, 1468-1482, (1971)
- WILSON, J.G.: Methods for administering agents and detecting malformations in experimental animals.
In: Teratology principles and techniques.
University Chicago Press, Chicago-London, (1965)

8. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

	Seite
Tab. I - Wirkungen und Nebenwirkungen lokaler Antibiotika und Chemotherapeutika im Vergleich mit PVP-Jod	3
Tab. II - Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der hämatologischen Werte bei dermalen Applikation	36
Tab. III - Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der klinischen Chemie bei dermalen Applikation	38
Tab. IV - Übersicht über die Ergebnisse der Urin-Untersuchung nach dermalen Applikation	40
Tab. V - Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der hämatologischen Werte bei intramuskulärer Applikation	50
Tab. VI - Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der klinischen Chemie bei intramuskulärer Applikation	52
Tab. VII - Übersicht über die Ergebnisse der Urin-Untersuchung nach intramuskulärer Applikation	53
Tab. VIII - Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der hämatologischen Werte bei oraler Applikation	63
Tab. IX - Übersicht über die Mittelwerte und Standardabweichungen der klinischen Chemie bei oraler Applikation	65
Tab. X - Übersicht über die Ergebnisse der Urin-Untersuchung nach oraler Applikation	66
Tab. XI - Übersicht über die Ergebnisse der teratologischen Untersuchungen	73
Abb. 1 - Poly(1-vinyl-2-pyrrolidon)-Jod-Komplex	4
Abb. 2 - Verlauf der mittleren Futteraufnahme bei Kontroll- sowie Dosisgruppen nach dermalen Applikation	32

	Seite
Abb. 3 - Verlauf der auf das Ausgangsgewicht bezogenen, mittleren prozentualen Körpergewichtszunahme bei Kontroll- sowie Dosisgruppen nach dermalen Applikation	33
Abb. 4 - Mortalitätsrate von Kontroll- und Dosisgruppen im zeitlichen Verlauf bei dermalen Applikation	35
Abb. 5 - Verlauf der Jodkonzentrationen in Blut, Urin und Kot bei dermalen Applikation	41
Abb. 6 - Relative Organgewichte der zu Versuchsende seziierten Tiere bezogen auf die relativen Organgewichte der Kontrollgruppe nach dermalen Applikation	43
Abb. 7 - Verlauf der mittleren Futteraufnahme bei Kontroll- und Dosisgruppen nach intramuskulärer Applikation	44
Abb. 8 - Verlauf der auf das Ausgangsgewicht bezogenen, mittleren prozentualen Körpergewichtszunahme bei Kontroll- und Dosisgruppen nach intramuskulärer Applikation	46
Abb. 9 - Mortalitätsrate von Kontroll- und Dosisgruppen im zeitlichen Verlauf bei intramuskulärer Applikation	48
Abb. 10 - Verlauf der Jodkonzentrationen in Blut, Urin und Kot bei intramuskulärer Applikation	55
Abb. 11 - Relative Organgewichte der zu Versuchsende seziierten Tiere bezogen auf die relativen Organgewichte der Kontrollgruppe nach intramuskulärer Applikation	57
Abb. 12 - Verlauf der mittleren Futteraufnahme bei Kontroll- und Dosisgruppen nach oraler Applikation	58
Abb. 13 - Verlauf der auf das Ausgangsgewicht bezogenen, mittleren prozentualen Körpergewichtszunahme bei Kontroll- und Dosisgruppen nach oraler Applikation	60

	Seite
Abb. 14 - Mortalitätsrate von Kontroll- und Dosisgruppen im zeitlichen Verlauf bei oraler Applikation	61
Abb. 15 - Verlauf der Jodkonzentrationen in Blut, Urin und Kot bei oraler Applikation	68
Abb. 16 - Relative Organgewichte der zu Versuchs- ende seziierten Tiere bezogen auf die relativen Organgewichte der Kontroll- tiere nach oraler Applikation	69

9. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS *

AP	- Alkalische Phosphatase
Ca ⁺⁺	- Calcium-Ion
CK	- Creatin-Kinase
Cl ⁻	- Chlorid
DAB 7	- Deutsches Arzneibuch 7. Ausgabe
FT ₄ I	- Freier Thyroxin Index
GOT	- Glutamat Oxalacetat Transaminase
K ⁺	- Kalium-Ion
KG	- Körpergewicht
LD ₀	- eine aus der akuten Toxizität extrapolierte, letale Dosis, bei der gerade kein Tier mehr stirbt
LD ₁₀	- Wert der akuten Toxizität, bei dem 10 % der behandelten Tiere sterben
Mg ⁺⁺	- Magnesium-Ion
Na ⁺	- Natrium-Ion
NZW	- New Zealand White (Kaninchen)
PVP	- Polyvinylpyrrolidon
T ₃	- Trijodthyronin
T ₄	- Tetrajodthyronin = Thyroxin
TBI	- Thyroxinbindungs Index
TBK	- Thyroxinbindungs Kapazität

*: Nicht aufgeführt sind die international gebräuchlichen Abkürzungen für Maßeinheiten.

Herrn Prof. Dr. K. Tempel möchte ich für sein stets
gezeigtes Entgegenkommen sowie hilfreiche Diskussionen
herzlich danken.

Herrn Apotheker W. Weyers gilt mein ganz besonderer
Dank für die Überlassung des Themas sowie die stets
gewährte großzügige Unterstützung.

Allen Mitarbeitern der CONFARMA GmbH und des Instituts für
wissenschaftliche Versuchstierzucht (IWV) gilt mein
Dank für das gute Arbeitsklima, hilfreiche Diskussionen
sowie die tatkräftige Unterstützung während der Arbeit.

L E B E N S L A U F

Name: Bernd Siegemund

Geburtsdatum: 15. Februar 1954

Geburtsort: St. Georgen im Schwarzwald

Eltern: Richard Siegemund, Dipl. Ing.
Edith Siegemund, geb. Slansky

Schulbildung: 1961 - 1965 Robert Gerwig Schule St. Georgen
1965 - 1973 Gymnasium St. Georgen
5. Juni 1973 Reifeprüfung

Hochschule: 1973 - 1979 Studium der Biologie an der
Universität Hohenheim
14. Mai 1979 Diplom Biologie
1978 - 1983 Studium der Tiermedizin an der
Ludwig-Maximilians-Universität
München
27. Mai 1983 Tierärztliches Staatsexamen
18. Juli 1983 Tierärztliche Approbation

Verheiratet: seit 22. Dezember 1981 mit der Realschul-
lehrerin Rita Siegemund, geb. Thielemann

